Bioquímica

LA BASE MOLECULAR DE LA VIDA *Tercera edición*

Trudy McKee

James R. McKee



McGRAW-HILL • INTERAMERICANA

Abreviaturas habituales en Bioquímica

A	adenina
AACR	aminoácido de cadena ramificada
AAE	aminoácido esencial
AANE	aminoácido no esencial
ACP	proteína transportadora de acilo
ACTH	hormona adenocorticotropa
ADP	adenosina-5'-difosfato
ALA	δ-aminolevulinato
AMP	adenosina-5'-monofosfato
ATP	adenosina-5'-trifosfato
BH_2	dihidrobiopterina (forma oxidada)
BH_4	tetrahidrobiopterina (forma reducida)
BPG	2,3-bisfosfoglicerato
C	citosina
cAMP	adenosina-3'-5'-cíclica monofosfato
CAP	proteína activadora de un gen de catabolito
CDP	citidina-5'-difosfato
cGMP	guanosina-3'-5'-cíclica monofosfato
cit	citocromo
CMP	citidina-5'-monofosfato
CoA o CoASH	coenzima A
CTP	citidina-5'-trifosfato
DAG	diacilglicerol
DHAP	dihidroxiacetona fosfato
DNA	ácido desoxirribonucleico
Dnasa	desoxirribonucleasa
DNP	2,4-dinitrofenol
dsDNA	DNA de cadena doble
dsRNA	RNA de cadena doble
EF	factor de elongación
EGF	factor de crecimiento epidérmico
ESR	resonancia de espín electrónico
FAD	dinucleótido de flavina y adenina (forma oxidada)
$FADH_2$	dinucleótido de flavina y adenina (forma reducida)
fMet	N-formilmetionina
FMN	mononucleótido de flavina (forma oxidada)
G	guanina o *energía libre de Gibbs*
GDP	guanosina-5'-difosfato
GH	hormona de crecimiento
GMP	guanosina-5'-monofosfato
GSH	glutatión
GSSG	glutatión (forma oxidada)
GTP	guanosina-5'-trifosfato
Hb	hemoglobina
HDL	lipoproteína de densidad elevada
HETPP	hidroxietil-tiamina pirofosfato
HGPRT	hipoxantina-guaninafosforribosil transferasa
HMG-CoA	β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA
hnRNA	RNA nuclear heterogéneo
HPLC	cromatografía liquida de presión elevada
HRE	elemento de respuesta a las hormonas
hsp	proteína de choque térmico
IF	factor de iniciación
IGF	factor insulinoide
IgG	inmunoglobulina G
IL	interleuquina
IMP	inosina-5'-monofosfato
IP_3	inositol-1,4,5-trifosfato

kb	kilobases
kD	kilodalton
K_m	constante de Michaelis
LDL	lipoproteína de densidad baja
LHC	complejo recolector de luz
Man	manosa
mRNA	RNA mensajero
NAD^+	dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma oxidada)
NADH	dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma reducida)
$NADP^+$	dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato (forma oxidada)
NADPH	dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato (forma reducida)
NDP	nucleósido-5'-difosfato
NMR	resonancia magnética nuclear
NO	óxido nítrico
NTP	nucleósido-5'-trifosfato
PAPS	3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato
pb	par de bases
PC	plastocianina
PDGF	factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PEP	fosfoenolpiruvato
PFK	fosfofructoquinasa
P_i	ortofosfato (fosfato inorgánico)
PIP_2	fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
PP_i	pirofosfato
PQ(Q)	plastoquinona (oxidada)
$PQH_2(QH_2)$	plastoquinona (reducida)
proteína G	proteína de unión de nucleótido de guanina
PRPP	fosforribosilpirofosfato
PS	fotosistema
RE	retículo endoplásmico
REL	retículo endoplásmico liso
RER	retículo endoplásmico rugoso
RF	factor de liberación
RFLP	polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción
RNA	ácido ribonucleico
RNasa	ribonucleasa
rRNA	RNA ribosómico
S	unidad Svedberg
SAH	S-adenosilhomocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SDS	dodecilsulfato sódico
SIDA	síndrome de inmunodeficiencia adquirida
snRNA	RNA nuclear pequeño
snRNP	partículas ribonucleoproteicas pequeñas
SRP	partícula de reconocimiento de la señal
ssDNA	DNA de cadena sencilla
ssRNA	RNA de cadena sencilla
T	timina
THF	tetrahidrofolato
TPP	tiamina pirofosfato
tRNA	RNA de transferencia
U	uracilo
UDP	uridina-5'-difosfato
UMP	uridina-5'-monofosfato
UQ	ubiquinona (coenzima Q)(forma oxidada)
UQH_2	ubiquinona (forma reducida)
UTP	uridina-5'-trifosfato
VIH	virus de inmunodeficiencia humana
VLDL	lipoproteína de densidad muy baja
XMP	xantosina-5'-monofosfato

Bioquímica



Trudy McKee

James R. McKee
University of the Sciences in Philadelphia



McGRAW-HILL • INTERAMERICANA

MADRID • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA • MÉXICO
NUEVA YORK • PANAMÁ • SAN JUAN • SANTAFÉ DE BOGOTÁ • SANTIAGO • SÃO PAULO
AUCKLAND • HAMBURGO • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • PARÍS
SAN FRANCISCO • SYDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TOKIO • TORONTO

Traducción

JOSÉ MANUEL GONZÁLEZ DE BUITRAGO
Catedrático de Bioquímica de E.U.
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular,
Universidad de Salamanca
Jefe de Sección de Bioquímica, Servicio de Bioquímica,
Hospital Universitario de Salamanca

BIOQUÍMICA: LA BASE MOLECULAR DE LA VIDA

Edificio Valrealty
C/Basauri, 17, 1.ª planta
28023 Aravaca (Madrid)

Primera edición: 2003

ISBN: 84-486-0524-1
Depósito legal: M. 40.443-2005

Traducido de la tercera edición en inglés de la obra:
BIOCHEMISTRY: THE MOLECULAR BASIS OF LIFE, THIRD EDITION
Trudy McKee, James R. McKee
ISBN: 0-07-231592-X

Preimpresión: MonoComp, S. A. C/Cartagena, 43. 28028 Madrid
Impreso en Edigrafos, S. A. C/Volta, 2. Pol. Ind. San Marcos. Getafe (Madrid)

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN

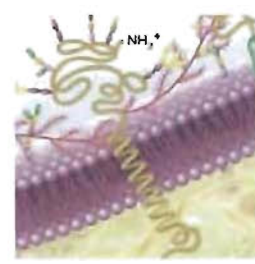
Este libro está dedicado a los investigadores bioquímicos

cuyos enormes esfuerzos han revelado la naturaleza intrincada

y sorprendentemente bella de los organismos vivos.

Contenido abreviado

Contenido





CAPÍTULO DOCE

CAPÍTULO TRECE



CAPÍTULO CATORCE

DAG
DAG
PS
S
Quinasa C
ATP
Ca²⁺
Proteína
ADP
Proteína — P

CAPÍTULO DIECIOCHO



CAPÍTULO DIECINUEVE

Prefacio

La Bioquímica estudia las bases moleculares de la vida. A lo largo de la historia de esta disciplina científica, los bioquímicos han trabajado para desvelar los principios químicos y físicos fundamentales que sustentan los procesos vivos. Su éxito queda demostrado por el enorme impacto que ha tenido el planteamiento bioquímico sobre las ciencias biológicas. Al comienzo del siglo XXI, la profundidad y amplitud de esta influencia son asombrosas. El progreso de nuestro conocimiento sobre los seres vivos, ya enorme al principio de los años 1990, se está superando actualmente, en una cuantía no desdeñable, debido a los espectaculares avances de las tecnologías del DNA, fruto de la investigación bioquímica. El acceso que los científicos tienen en la actualidad a la información genética de organismos completos ha dado lugar a conocimientos antes inimaginables sobre el funcionamiento interno de los seres vivos y las causas de la enfermedad. El reto en la enseñanza de las ciencias biológicas y físicas es cómo preparar a los estudiantes para carreras profesionales en campos diversos en los que el ritmo de acumulación de conocimientos sólo se acelerará en el futuro previsible. La herramienta más importante que los profesores pueden ofrecer a estos estudiantes es una comprensión razonable de la Bioquímica. La tercera edición de *Bioquímica: La base molecular de la vida*, se ha revisado y actualizado para proporcionar una introducción lógica y accesible de los principios bioquímicos.

ORGANIZACIÓN Y MÉTODO

Este libro de texto está diseñado para los estudiantes de biología y química y otros estudios de Ciencias de la Salud. Se han hecho pocas presunciones sobre los conocimientos previos de química y biología que tienen los estudiantes. Para garantizar que todos ellos están suficientemente preparados para adquirir una comprensión significativa de la Bioquímica, los cuatro primeros capítulos revisan los principios de temas relevantes, como los grupos funcionales orgánicos, el enlace no covalente, la termodinámica y la estructura celular. En estos primeros capítulos se presentan varios temas, que se continúan posteriormente a lo largo del libro. Se resalta la relación entre la arquitectura molecular y las propiedades funcionales de las biomoléculas y la naturaleza dinámica, incesante y autorregulada de los procesos vivos. A los estudiantes se les ofrecen también panorámicas generales de las principales técnicas físicas y químicas que han utilizado los bioquímicos para explorar la vida a nivel molecular.

QUÉ ES NUEVO EN ESTA EDICIÓN

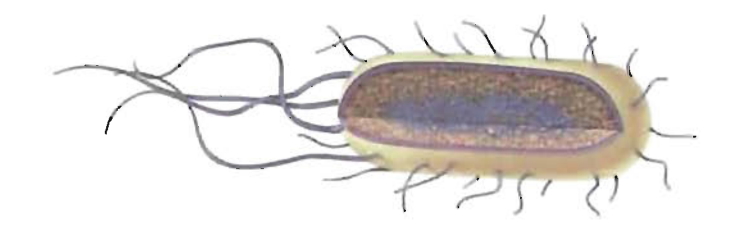
El ritmo rápido de los descubrimientos en las ciencias biológicas ha hecho necesario introducir varios cambios notables y mejoras en esta edición. Entre éstas se encuentran las siguientes:

- Los Recuadros de Métodos Bioquímicos se han integrado dentro de los capítulos. Se han actualizado, escrito de nuevo e insertado en los lugares adecuados dentro del texto los Materiales del Apéndice B de la segunda edición. Estos ensayos se centran en las técnicas de laboratorio clásicas y actuales más importantes.

- Se destaca en esta edición que la información está codificada en la estructura tridimensional de *todas* las biomoléculas. Este planteamiento presenta a los estudiantes las características más básicas y accesibles de la teoría de la información biológica, y hace más comprensibles varios temas (p. ej., los mecanismos de señalización celular).

- Se han añadido diversos Recuadros de Interés Especial nuevos, que presentan a los estudiantes temas bioquímicos actuales. Entre ellos se encuentran: «Plegamiento proteico y enfermedades humanas», «El origen de la vida» e «Información biológica y Código de azúcares».

- Se ha reconsiderado totalmente el programa gráfico. Más de la mitad de las 700 figuras son nuevas o se han modificado sustancialmente para mejorar la claridad y el contenido de la información.



- Se ha revisado totalmente el diseño del libro para hacerlo visualmente más interesante, fácil de leer y de aspecto actual.

AYUDAS COMPLEMENTARIAS

El siguiente material didáctico tan sólo está disponible en su versión inglesa.

- **Digital Content Manager.**
- **Online Learning Center:** Puede encontrarse en *www.mhhe.com/mckee.*
- **Instructor's Manual/Test Item File.**
- **Student Study Guide/Solutions Manual.**
- **Transparencies.**
- **Brownstone Diploma computerized classroom management system.**

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su gratitud por los esfuerzos de las personas que han realizado revisiones detalladas de la tercera edición:

Gul Afshan *Milwaukee School of Engineering*
Donald R. Babin *Creighton University*
Oscar P. Chilson *Washington University*
Danny J. Davis *University of Arkansas*
Patricia Depra *Westfield State College*
Robert P. Dixon *Southern Illinois University-Edwardsville*
Patricia Draves *University of Central Arkansas*
Nick Flynn *Angela State University*
Larry L. Jackson *Montana State University*
Michael Kalafatis *Cleveland State University*
Hugh Lawford *University of Toronto*
Maria O. Longas *Purdue University-Calumet*
Cran Lucas *Louisiana State University-Shreveport*
Robin Miskimins *University of South Dakota*
Tom Rutledge *Urinus College*
Edward Senkbeil *Salisbury State University*
Ralph Stephani *St. Johns University*
Dan M. Sullivan *University of Nebraska*
John M. Tomich *Kansas State University*
Shashi Unnithan *Front Range Community College*
Alexandre G. Volkov *Oakwood College*
Linette M. Watkins *Southwest Texas State University*
Lisa Wen Western *Illinois University*
Kenneth Wunch *Tulane University*

También queremos dar las gracias a aquellos que revisaron la primera y segunda ediciones de este texto:

Richard Saylor *Shelton State Community College*
Craig R. Johnson *Carlow College*
Larry D. Martin *Momingside College*
Amulfo Mar *University of Texas at Brownsville*
Terry Helser *SUNY College at Oneonta*
Edward G. Senkbeil *Salisbury State University*
Martha McBride *Norwich University*
Ralph Shaw *Southeastern Louisiana University*
Clarence Fouche *Virginia Intermont College*
Jerome Maas *Oakton Community College*
Justine Walhout *Rockford College*
William Voige *James Madison University*
Carol Leslie *Union University*
Harvey Nikkei *Grand Valley State University*
Brenda Braaten *Framingham State College*
Duane LeToumeau *University of Idaho*
William Sweeney *Hunter College*
Charles Hosler *University of Wisconsin*
Mark Annstrong *Blackbum College*
Treva Pamer *Jersey City State College*
Bruce Banks *University of North Carolina*
David Speckhard *Loras College*
Joyce Miller *University of Wisconsin-Platteville*
Beulah Woodfin *University of New Mexico*
Robley J. Light *Florida State University*
Anthony P. Toste *Southwest Missouri State University*
Les Wynston *California State University-Long Beach*
Alfred Winer *University of Kentucky*
Larry L. Jackson *Montana State University*
Ivan Kaiser *University of Wyoming*
Alien T. Phillips *Pennsylvania State University*
Bruce Morimoto *Purdue University*
John R. Jefferson *Luther College*
Ram P. Singhal *Wichita State University*
Craig Tuerk *Morehead State University*
Alan Myers *Iowa State University*
Allan Bieber *Arizona State University*
Scott Pattison *Ball State University*
P. Shing Ho *Oregon State University*
Charles Englund *Bethany College*
Lawrence K. Duffy *University of Alaska-Fairbanks*
Paul Kline *Middle Tennessee State University*
Christine Tachibana *Pennsylvania State University*

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a Kent Peterson, nuestro editor de promoción, y a Spencer Cotkin, nuestro editor de producción, por su apoyo y estímulo en todas nuestras empresas. Deseamos también dar las gracias a James M. Smith, que nos proporcionó una guía inestimable durante los primeros meses del proceso de revisión. Agradecemos los esfuerzos excelentes del equipo de producción de McGraw-Hill y de la plantilla de Electronic Publishing Services. Apreciamos espe-

cialmente los esfuerzos de Jill Peter, el director de producción. Damos especialmente las gracias a Joseph Rabinowitz (Profesor Emérito, Universidad de Pensilvania), Ann Randolph (Rosemont College) y Diane Stroup (Universidad Kent State), cuya diligencia constante en este proyecto ha asegurado la exactitud del texto. Agradecemos también a Michael Kalafatis (Universidad del Estado en Cleveland) y a Patricia Draves (Universidad de Arkansas Central), por revisar parte del material complementario. Además de sus esfuerzos y los de los revisores, todo el texto y las figuras han sido revisados por correctores de pruebas profesionales. Cada palabra, ejemplo y figura han sido comprobados de forma independiente por muchas personas.

Finalmente, queremos extender nuestra gratitud más profunda a aquellas personas que nos han ayudado, alentado y hecho posible este proyecto: Nicholas Rosa, Ira y Jean Cantor, y Joseph y Josephine Rabinowitz.

Finalmente, damos las gracias a nuestro hijo, James Adrian McKee, por su paciencia y ánimo inagotable.

Trudy McKee

James R. McKee

Visita guiada por el sistema utilizado para el aprendizaje de la Bioquímica

CAPÍTULO SIETE

Hidratos de carbono

SUMARIO

MONOSACÁRIDOS

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.1 ÁCIDO ASCÓRBICO

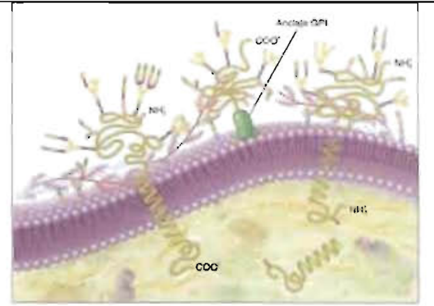
DISACÁRIDOS Y OLIGOSACÁRIDOS

POLISACÁRIDOS

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.2 EL LINO

GLUCOCONJUGADOS

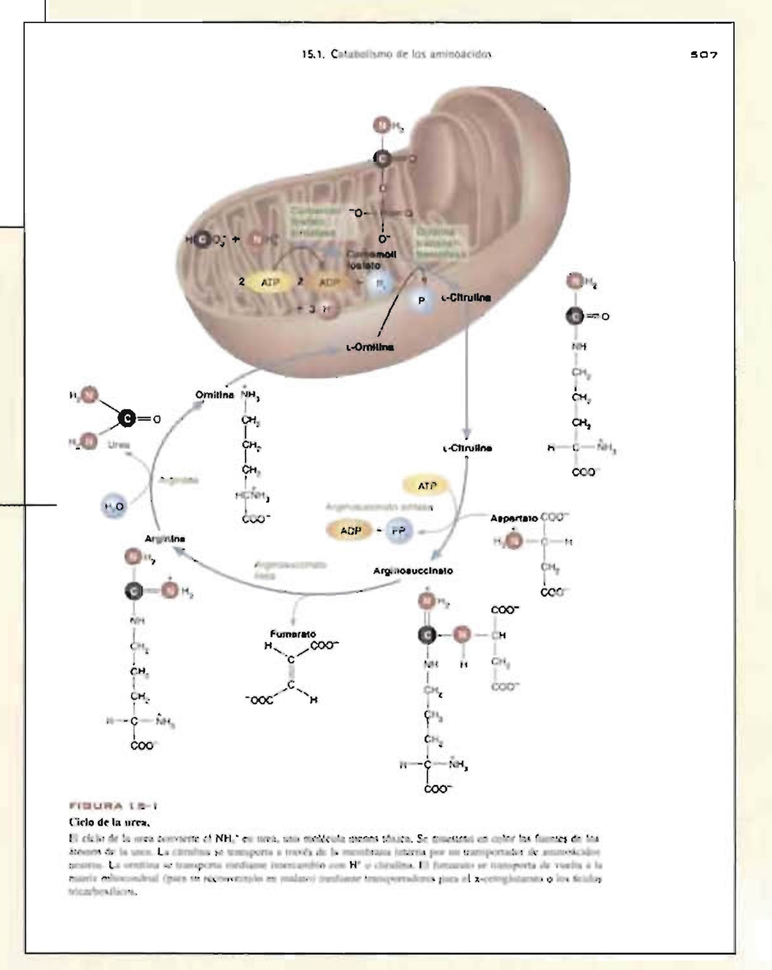
RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.3 INFORMACIÓN BIOLÓGICA Y CÓDIGO DE AZÚCARES



300

SUMARIO Y VISIÓN GENERAL DE CADA CAPÍTULO

Cada capítulo se inicia con un sumario que presenta al estudiante los temas a abordar. Este sumario ofrece además al profesor un resumen temático de consulta rápida que le permite organizar el contenido de sus clases. Un párrafo introductorio sirve para situar la materia tratada en el contexto general y destacar su importancia.



PROGRAMA DE GRÁFICOS

Toda una serie de fotografías, ilustraciones y cuadros a todo color resaltan el contenido didáctico. Una interesante fotografía o ilustración introduce visualmente, a modo de apertura, el foco de atención de cada capítulo.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 17.3. «Formas de vida» de los virus

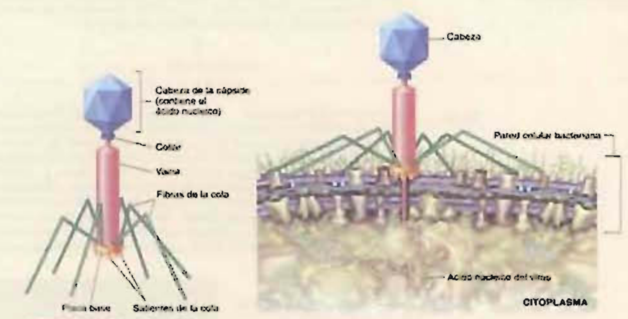


FIGURA 17K Bacteriófago T4.
(a) El genoma de DNA del bacteriófago T4 induce la síntesis por la célula hospedadora de unas 30 proteínas. (b) Penetración de la pared celular de la célula hospedadora por un bacteriófago.

PALABRAS CLAVE RESALTADAS EN NEGRITA

Las palabras clave figuran en negrita cuando se presentan por primera vez en el texto, e inmediatamente se definen. Todas las palabras clave se definen además en el Glosario.

RECUADROS DE INTERÉS ESPECIAL

Estas disertaciones, intercaladas en el texto, ayudan al estudiante a integrar los principios bioquímicos con sus aplicaciones cotidianas, y amplían la descripción de muchos conceptos.

MÉTODOS BIOQUÍMICOS 2.1. Tecnología celular

Fraccionamiento celular

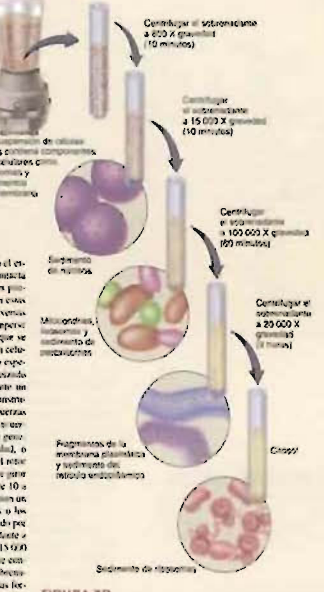


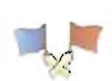
FIGURA 2D
Fraccionamiento celular.

MÉTODOS BIOQUÍMICOS

Estos contenidos enmarcados en el texto, todos ellos nuevos en esta edición, revisan las principales técnicas empleadas en la investigación con seres vivos. A partir de la información que aportan, el estudiante podrá relacionar la tecnología con el conocimiento científico. Parte de este material permite además responder a las preguntas de repaso intercaladas en el texto y al final de cada capítulo.


Bioquímica vegetal


Aplicación médica


Mecanismo de regulación metabólica

ICONOS DE CONCEPTOS Y APLICACIONES

A lo largo de todo el texto, el estudiante encontrará símbolos gráficos que marcan diversos conceptos y aplicaciones importantes.

PROBLEMAS Y SOLUCIONES EN CADA CAPÍTULO

Como mejor se aprende a resolver problemas es mediante el estudio de ejemplos y la propia práctica; se incluyen problemas con sus soluciones allí donde se ha considerado oportuno.

PREGUNTAS

Numerosas preguntas en cada capítulo ayudan al estudiante a integrar el material recién aprendido con la información relevante y oportuna.

La gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, una enzima de la rota glucolítica (Capítulo 8), se inactiva por la alquilación con yodoacetato. Las enzimas que utilizan grupos sulfhidrilo para formar enlaces covalentes con cofactores metálicos con frecuencia se inhiben de forma irreversible por metales pesados (p. ej., mercurio y plomo). La anemia en el envenenamiento por plomo está producida en parte por la unión del plomo a los grupos sulfhidrilo de la ferroquelatasa. La ferroquelatasa cataliza la inserción de Fe^{2+} en el hemo.

El problema 6.4 está relacionado con la inhibición enzimática.

PROBLEMA 6.4

Considere la representación de Lineweaver-Burk de la Figura 6.12.

Línea *A* = reacción enzimática normal
Línea *B* = se ha añadido el compuesto B
Línea *C* = se ha añadido el compuesto C
Línea *D* = se ha añadido el compuesto D

Identifique el tipo de acción inhibitoria de los compuestos B, C y D

Solución

El compuesto B es un inhibidor competitivo, ya que sólo ha variado la K_m. El compuesto C es un inhibidor no competitivo puro, ya que sólo ha cambiado la V_{max}. El compuesto D es un inhibidor acompetitivo, ya que cambian tanto la K_m como la V_{max}.

PREGUNTA 6.4

La yodoacetamida es un inhibidor reversible de varias enzimas que tienen un residuo de cisteína en sus lugares activos. Tras examinar su estructura prediga los productos de la reacción de la yodoacetamida con una enzima así





ENZIMAS ALOSTÉRICAS Aunque el modelo de Michaelis-Menten es una herramienta inestimable, no explica las propiedades cinéticas de muchas enzimas. Por ejemplo, las representaciones de la velocidad de reacción frente a la concentración de sustrato para muchas enzimas con varias subunidades son sigmoideas en lugar de hiperbólicas, como predice el modelo de Michaelis-Menten (Fig. 6.13). Estos efectos se ven en un grupo importante de enzimas denominadas **enzimas alostéricas**. La curva de unión del sustrato de la Figura 6.13 se parece a la curva de unión del oxígeno a la hemoglobina. Existen otras semejanzas entre las enzimas alostéricas y la hemoglobina. La mayoría de las enzimas alostéricas son proteínas con varias subunidades. La unión del sustrato a un protómero en una enzima alosté-

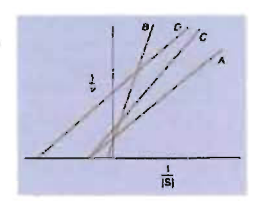


FIGURA 6-12
Representación de Lineweaver-Bruk.

CUADRO 19-1
Código genético

Primera posición (extremo 5')	Segunda posición U		Segunda posición C		Segunda posición A		Segunda posición G		Tercera posición (extremo 3')
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	Leu	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP	A
	UUG		UCG		UAG		UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

2. **Específico.** Cada codón es una señal para un aminoácido específico. La mayoría de los codones que codifican el mismo aminoácido poseen secuencias semejantes. Por ejemplo, en cada uno de los cuatro codones de serina (UCU, UCC, UCA y UCG) la primera y la segunda base son idénticas. Por consiguiente, una mutación puntual en la tercera base de un codón de serina no sería lesiva.

3. **No solapante y sin puntuación.** La secuencia codificante del mRNA se «lee» por un ribosoma que comienza desde el codón de iniciación (AUG) como una secuencia continua cogiendo cada vez tres bases hasta que se llega a un codón de parada. Se denomina **marco de lectura** a un conjunto de codones triplete contiguos en un mRNA. El término **marco de lectura abierto** describe un conjunto de secuencias de bases tripletes de un mRNA que contiene un codón de parada.

4. **Universal.** Con unas pocas excepciones menores, el código genético es universal. En otras palabras, el examen del proceso de traducción en las especies investigadas ha descubierto que las señales de codificación de los aminoácidos son siempre las mismas.

CONCEPTOS CLAVE 19.2

El código genético es un mecanismo mediante el cual los ribosomas traducen las secuencias de bases de los nucleótidos en la secuencia primaria de los polipéptidos.

PREGUNTA 19.1

¿A cuál de los siguientes procesos se refiere el término *traducción*?
a. DNA → RNA
b. RNA → DNA
c. proteínas → RNA
d. RNA → proteínas

PREGUNTA 19.2

Explique los siguientes términos:
a. codón
b. código degenerado
c. marco de lectura
d. marco de lectura abierto
e. código universal

CUADROS

Se presenta en forma de cuadros una gran cantidad de información, desde datos numéricos hasta estructuras moleculares. Esta información complementa el texto y sirve para resolver muchos de los problemas que en éste se plantean.

CONCEPTOS CLAVE

Un breve resumen al final de cada sección ayuda al estudiante a fijar las ideas esenciales contenidas en dicha sección.

RESÚMENES DE LOS CAPÍTULOS

Al final de cada capítulo, se ha añadido un resumen para facilitar al estudiante la identificación de los conceptos fundamentales y ayudarle en el repaso ante dudas y exámenes.

LECTURAS RECOMENDADAS

Cada capítulo termina aconsejando una serie de referencias bibliográficas para profundizar en el estudio de los temas presentados o de otros pertinentes.

PALABRAS CLAVE

Se incluye un listado de los términos introducidos en el capítulo, junto con el número de la página en que aparecen por vez primera.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

Las primeras preguntas que aparecen al final de cada capítulo son cuestiones básicas, que ayudan al estudiante a comprobar su nivel de comprensión del tema tratado.

PREGUNTAS DE RAZONAR

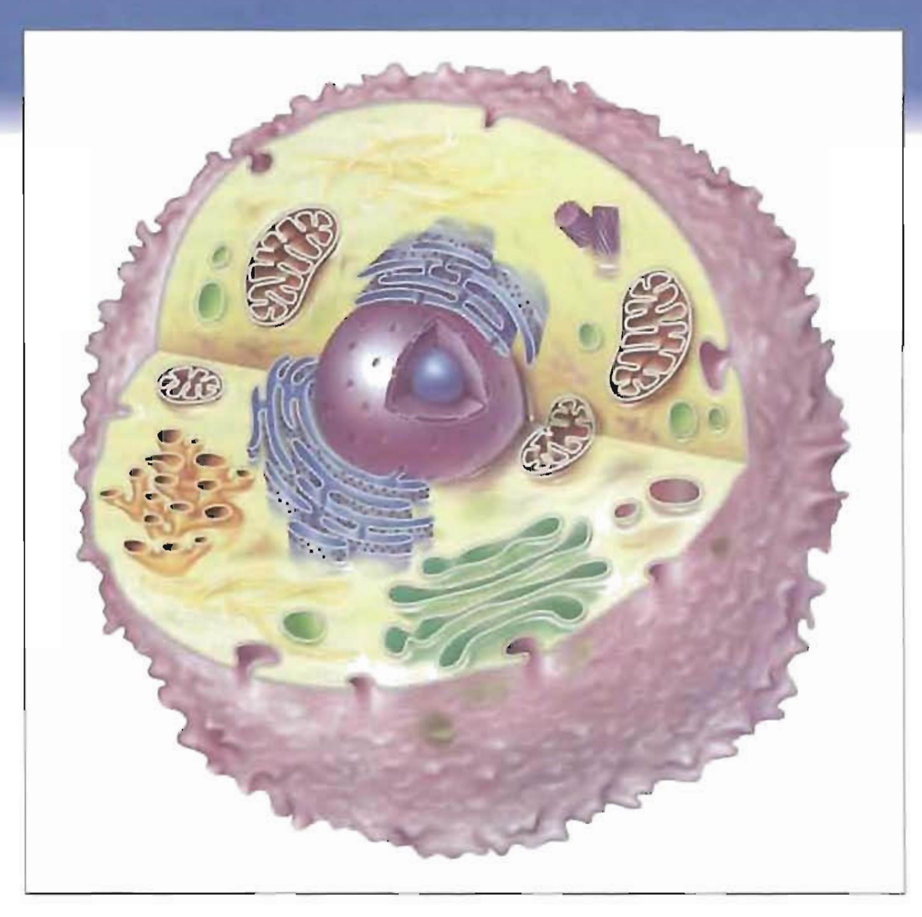
También al final de cada capítulo, una serie de preguntas más complejas guían una reflexión más profunda en el estudio de la bioquímica.

GLOSARIO FINAL DE PALABRAS CLAVE

Todas las palabras que aparecen en negrita en el texto se definen en el glosario final del libro.

CAPÍTULO UNO

Introducción a la Bioquímica



La célula viva. Los seres vivos están formados por una o varias células. Las estructuras complejas de las células vivas consiguen que éstas realicen funciones como la generación de energía, el crecimiento y la reproducción.

La vida ha demostrado ser bastante más compleja de lo que la imaginación humana hubiera podido concebir. La estructura de la célula es el caso en cuestión. Las células no son las bolsas de protoplasma que los científicos imaginaron hace alrededor de un siglo, sino que son estructuralmente complejas y dinámicas. La historia de cómo se ha adquirido el conocimiento actual sobre los procesos vivos, con sus miríadas de gráficos retorcidos, rivaliza con cualquier obra de ficción detectivesca. Los científicos que trabajan para entender la realidad física del mundo natural con frecuencia quedan sorprendidos de lo sofisticados que son incluso los organismos más sencillos. Este capítulo y los siguientes se centran en los mecanismos básicos que sustentan la vida descubiertos hasta el momento.

¿Qué es la vida? La respuesta a esta pregunta sencilla y aparentemente engañosa ha sido esquiva a pesar del trabajo de los científicos durante varios siglos. Gran parte de la dificultad para delinear la naturaleza precisa de los seres vivos descansa en la abrumadora diversidad del mundo vivo y en el solapamiento aparente de diversas propiedades de la materia viva y la muerta. Como consecuencia, la vida se ha considerado como una propiedad intangible que hace difícil una explicación sencilla. Generalmente se describe en términos operativos, por ejemplo, como movimiento, reproducción, adaptación y respuesta a los estímulos externos. Sin embargo, desde finales del siglo XIX, la ciencia de la Bioquímica (la investigación de las bases moleculares de la vida) ha aportado nuevos conocimientos. Los bioquímicos han investigado los seres vivos con un enfoque experimental único que se basa en los conceptos de la biología, la química, la física y las matemáticas, así como con una tecnología cada vez más sofisticada. Su trabajo ha descubierto que a pesar de la rica diversidad de seres vivos, desde la ballena azul al más pequeño de los microorganismos, todos obedecen a las mismas leyes físicas y químicas que rigen el universo. Todos están formados por la misma clase de moléculas biológicas y sus métodos de mantenimiento de los procesos biológicos son semejantes. Entre los conocimientos más importantes que se han obtenido a partir del trabajo de los bioquímicos se encuentran los siguientes:

1. **La vida es compleja y dinámica**. Todos los organismos están formados principalmente por moléculas orgánicas (con carbono) que tienen formas tridimensionales complicadas. Los procesos vivos, como el crecimiento y el desarrollo, utilizan miles de reacciones químicas en las que variedades ingentes de moléculas vibran y giran, interaccionan, chocan y se reagrupan en moléculas nuevas.
2. **La vida está organizada y automantenida**. Los seres vivos son sistemas organizados jerárquicamente, es decir, cada nivel descansa sobre el inmediato inferior (Fig. 1-1). Las moléculas que constituyen los seres vivos, denominadas **biomoléculas**, están formadas por átomos, que a su vez están formados por partículas subatómicas. Determinadas biomoléculas se unen para formar polímeros denominados **macromoléculas**. Como ejemplos tenemos los ácidos nucleicos, las proteínas y los polisacáridos, que están formados, respectivamente, por nucleótidos, aminoácidos y azúcares. Varias combinaciones de biomoléculas y macromoléculas forman una miríada de estructuras supramoleculares más grandes y más complejas que juntas constituyen las células. En los organismos multicelulares hay otros niveles de organización como los tejidos, los órganos y los sistemas orgánicos. En cada nivel de organización el conjunto es mayor que la suma de las partes. En otras palabras, en cada nivel emergen propiedades nuevas que no se pueden predecir a partir del análisis de las partes que lo componen. Por ejemplo, la hemoglobina, la proteína que transporta el oxígeno molecular en la sangre de los vertebrados, está formada por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno e hierro. El componente hemo de la hemoglobina, que es responsable del transporte de oxígeno, no se oxida por el oxígeno como sucedería sin el componente proteico. Las propiedades del sistema de anillo hemo y su protección de la oxidación por la proteína que lo rodea son ejemplos de *propiedades emergentes*. La organización y el funcionamiento ordenado de los seres vivos requiere adquirir continuamente energía y materia, y eliminar las moléculas de desecho. Estas tareas las realizan cientos de reacciones bioquímicas que están catalizadas por **enzimas**. Se denomina **metabolismo** a la suma total de todas las reacciones en un ser vivo. La capacidad de los seres vivos para regular los procesos metabólicos, a pesar de la variabilidad de sus ambientes interno y externo, se denomina **homeostasis**.
3. **La vida es celular**. Las células se diferencian mucho en estructura y función, pero todas están rodeadas por una membrana que controla el transporte de algunas sustancias químicas dentro y fuera de la célula. La membrana también participa en la respuesta de la célula al ambiente extracelular. Si se divide una célula en sus partes componentes, se detiene el funcionamiento vital. Las células se originan únicamente por la división de células que ya existen.

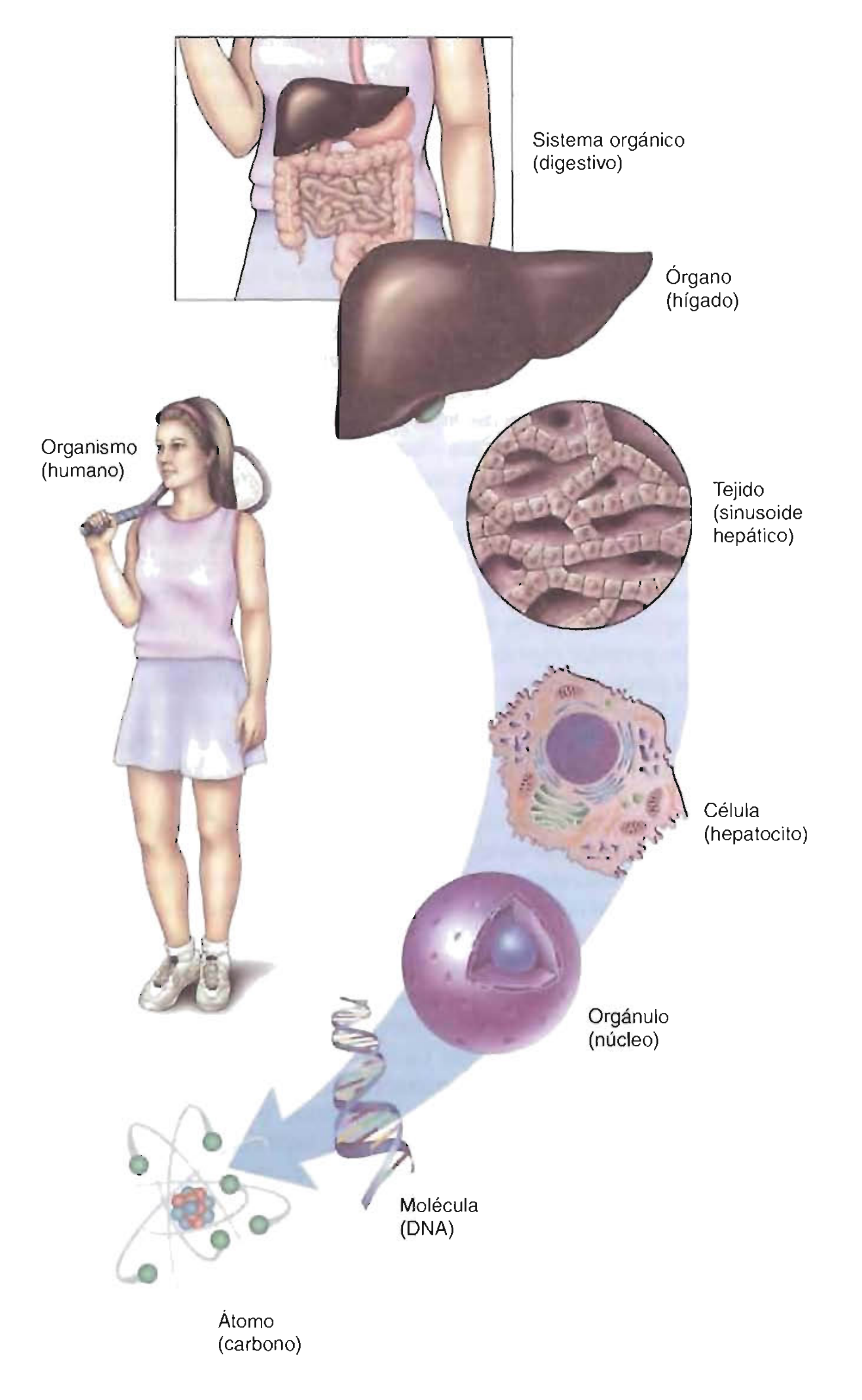


FIGURA 1-1

Organización jerárquica de un organismo multicelular: el ser humano

Los organismos multicelulares tienen varios niveles de organización: sistemas orgánicos, órganos, tejidos, células, orgánulos, moléculas y átomos. Se muestra el sistema digestivo y uno de sus órganos componentes (el hígado). El hígado es un órgano multifuncional que posee varias funciones digestivas. Por ejemplo, produce bilis, que facilita la digestión de las grasas y procesa y distribuye las moléculas de alimento absorbidas en el intestino delgado a otras partes del cuerpo. El DNA, una molécula que se encuentra en las células, contiene la información genética que controla la función celular.

4. **La vida se fundamenta en la información**. La organización requiere información. Los seres vivos pueden considerarse como sistemas procesadores de información, ya que el mantenimiento de su integridad estructural y de los procesos metabólicos requiere la gestión adecuada del conjunto enorme de moléculas interaccionantes dentro de las células, y entre las células y las generaciones de futuras células. La información biológica está en forma de mensajes codificados que son inherentes a la estructura tridimensional singular de las biomoléculas. La información genética, que se almacena en las secuencias lineales de nucleótidos en el ácido nucleico ácido desoxirribonucleico (DNA), denominadas **genes**, especifica a su vez la secuencia lineal de

aminoácidos de las proteínas y de qué forma y cuándo se sintetizan esas proteínas. Las proteínas realizan su función interaccionando con otras moléculas. La estructura tridimensional singular de cada clase de proteína permite su unión y su interacción con una clase específica de moléculas, con una forma complementaria precisa. Durante el proceso de unión se transfiere la información. Por ejemplo, la unión de la insulina, una proteína que libera el páncreas de los vertebrados, a las moléculas receptoras de insulina en la superficie de determinadas células es una señal que inicia la captura de la molécula nutriente glucosa. Asimismo, el transporte de los aminoácidos es sensible a la insulina.

5. **La vida se adapta y evoluciona**. Toda la vida sobre la Tierra tiene un origen común, y las formas nuevas surgen a partir de otras formas. Cuando un organismo individual en una población se autorreproduce, las modificaciones del DNA inducidas por las agresiones y los errores que tienen lugar cuando se copian las moléculas de DNA pueden dar lugar a **mutaciones** o cambios de la secuencia. La mayoría de las mutaciones son silenciosas; es decir, o bien las repara la célula o no tienen efecto sobre el funcionamiento del organismo. Sin embargo, algunas son nocivas y sirven para limitar el éxito reproductor de los descendientes. En ocasiones poco frecuentes, las mutaciones pueden contribuir a aumentar la capacidad del organismo para sobrevivir, para adaptarse a circunstancias nuevas y para reproducirse. La principal fuerza impulsora de este proceso es la capacidad de explotar las fuentes de energía. Los individuos que poseen características que les permiten explotar mejor una fuente energética específica dentro de su hábitat pueden tener una ventaja competitiva cuando los recursos son limitados. A lo largo de muchas generaciones la interdependencia de los cambios ambientales y de la variación genética puede dar lugar a la acumulación de características favorables y, finalmente, a formas de vida muy diferentes.

Las ciencias biológicas están experimentando en el momento actual una revolución creada por la aplicación de las técnicas bioquímicas y la genética. Las tecnologías generadas por esta ciencia relativamente nueva —la biología molecular— han proporcionado un conocimiento inimaginable sobre el funcionamiento de los seres vivos. En la actualidad, es habitual la identificación de genes específicos y el seguimiento de sus efectos en los seres vivos. Este enfoque nuevo ya ha proporcionado una avalancha de información que ha transformado disciplinas tan diversas como la agricultura, la arqueología, la botánica, la biología del desarrollo, la ecología, la ciencia forense, la medicina, la farmacología y la nutrición. La capacidad de los futuros científicos para utilizar el volumen completo de conocimientos nuevos y crecientes comienza con el aprendizaje de los principios básicos de la bioquímica. Este capítulo presenta una visión general de la bioquímica y una introducción a los conceptos fundamentales de esta disciplina científica. Tras una revisión breve de la diversidad de la vida, comenzamos nuestro análisis de la bioquímica con una introducción a la estructura y función de las principales biomoléculas. A continuación se consideran los procesos bioquímicos más importantes. El capítulo concluye con una visión general del procesamiento de la información genética y una introducción breve a los conceptos básicos de la bioquímica experimental moderna. A lo largo de este capítulo y en el resto del libro, explicamos la relación tan estrecha que existe entre los procesos básicos de los seres vivos, la estructura de los compuestos bioquímicos, las miles de reacciones bioquímicas de los organismos, y la herencia genética. El entendimiento de cualquiera de estos temas está ligado de forma inseparable al entendimiento de los demás.

CONCEPTOS CLAVE 1.1

Todos los organismos vivos obedecen a las mismas leyes físicas y químicas. La vida es compleja, dinámica, organizada y automantenida. La vida es celular y basada en la información. La vida se adapta y evoluciona.

1.1. EL MUNDO VIVO

Los cálculos sobre el número de especies vivas actuales van desde varios millones a decenas de millones. Todas están formadas por **células procariotas** o **eucariotas**. La mayoría de los organismos son procariotas; es decir, sus células carecen de núcleo (*pro* = «antes», *karyon* = «núcleo» o «meollo»). Los eucariotas (*eu* = «verdade-

ro») están formados por un número de células relativamente grande y de gran complejidad que poseen un núcleo, que es un compartimiento rodeado por una membrana que contiene el material genético.

Los procariotas no sólo son las formas más antiguas de vida sobre la Tierra, sino que desde hace unos 3800 millones hasta alrededor de 1800 millones de años, fueron las únicas formas de vida. Hasta los años 1980 se pensaba que los procariotas constaban sólo de las bacterias. El análisis de las secuencias de nucleótidos del ácido ribonucleico (RNA), una clase de ácido nucleico que participa en la síntesis de proteínas, ha demostrado que existen dos grupos de procariotas bastante distintos: bacterias y arqueas. Su apariencia externa es semejante, pero las diferencias de las propiedades moleculares de las bacterias y las arqueas son más pronunciadas que las diferencias con las de los eucariotas. Los procariotas unicelulares son los seres vivos más pequeños. No obstante, su biomasa combinada es 10 veces mayor que la de los organismos eucariotas más grandes (animales, vegetales, hongos y protistas unicelulares). Los procariotas virtualmente ocupan cada nicho de la Tierra. Además de en el aire, el suelo y el agua, varias especies procariotas viven sobre la piel y en el tubo digestivo de los animales, dentro de los manantiales calientes y a varios kilómetros de profundidad dentro de la corteza de la Tierra.

Las pruebas moleculares sobre las relaciones evolutivas de las especies vivas son lo suficientemente convincentes para que muchos científicos clasifiquen actualmente a todos los seres vivos en tres dominios: **bacterias**, **arqueas** y **eucariotas** (Fig. 1-2). Cada dominio se considera brevemente. Posteriormente, se presenta una introducción a los virus, entidades genéticas que se encuentran en la frontera entre lo vivo y lo inanimado.

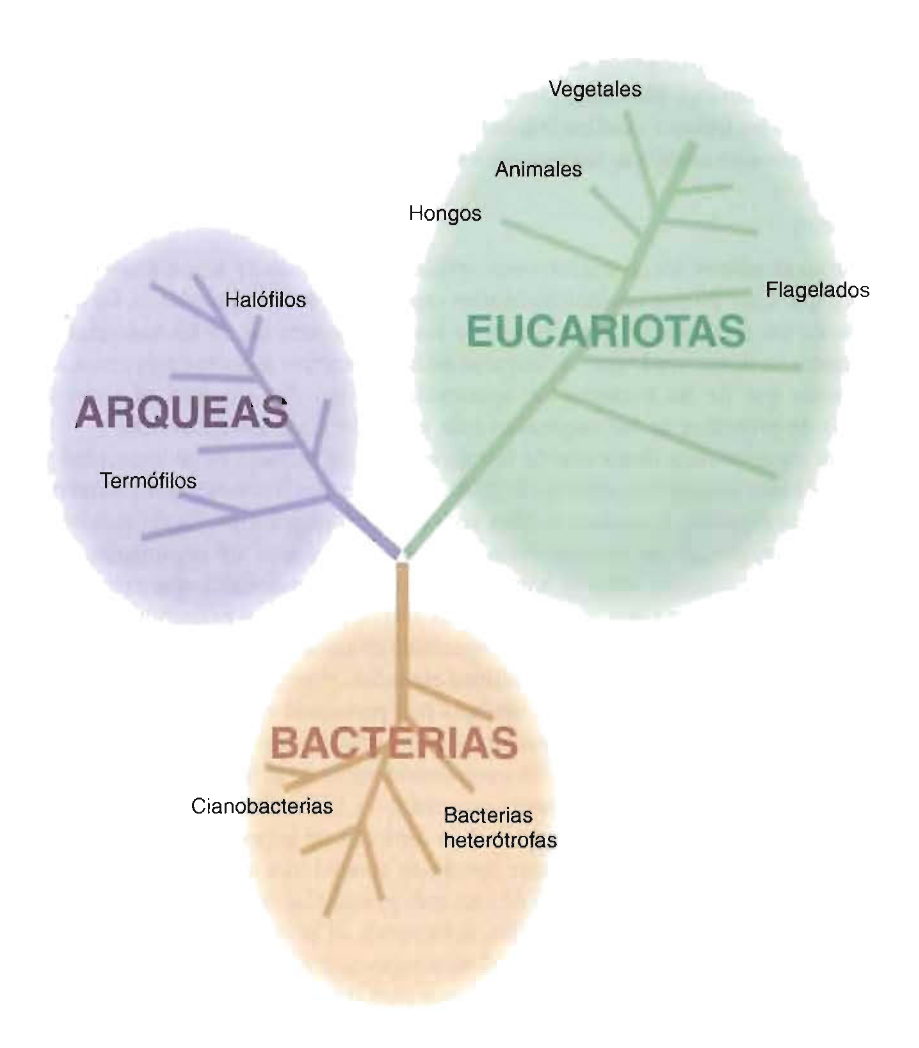


FIGURA 1-2

Los dominios de la vida sobre la Tierra

Las pruebas moleculares indican que todas las formas de vida investigadas hasta ahora pueden clasificarse en tres dominios.

Bacterias

Las bacterias son tan diversas en sus hábitat y en sus capacidades nutritivas que sólo pueden realizarse sobre ellas afirmaciones generales. Como grupo, las bacterias son especialmente conocidas por su diversidad bioquímica. Varias especies poseen características que las permiten explotar virtualmente cada fuente de energía, nutriente y entorno concebible. Por ejemplo, algunas especies bacterianas pueden utilizar la energía luminosa para convertir el CO_2 en moléculas orgánicas. Otras utilizan la energía que extraen de las moléculas inorgánicas u orgánicas.

Algunas especies bacterianas poseen una reputación bien merecida como productoras de enfermedades (p. ej., cólera, tuberculosis, sífilis y tétanos). Sin embargo, la gran mayoría desempeña funciones vitales en el mantenimiento de la vida sobre la tierra. Se requiere la actividad de muchas clases de bacterias para reciclar nutrientes como el carbono, el nitrógeno y el azufre. Por ejemplo, la bacteria *Rhizobium* transforma el nitrógeno molecular inerte (N_2) en amoníaco (NH_3), que luego puede ser asimilado por otros organismos como las plantas leguminosas. Una de las funciones más importantes de las bacterias es la descomposición, un proceso que libera nutrientes de los organismos muertos, para que puedan utilizarlos los vivos.

Muchas especies bacterianas son de gran interés práctico para el ser humano. Los alimentos como el yogur, el queso, el pan ácido y el «sauerkraut» se fabrican con la colaboración de determinadas bacterias. Otras clases de bacterias, como los actinomicetos, producen antibióticos que se utilizan para curar las infecciones bacterianas. Las bacterias han sido especialmente valiosas en la investigación bioquímica. Debido a su rápido crecimiento y a su cultivo relativamente fácil, determinadas especies (especialmente *Escherichia coli*) han sido fundamentales en la investigación de la mayoría de los procesos bioquímicos básicos. La información adquirida en los estudios sobre los microorganismos patógenos se ha utilizado en medicina para aliviar y prevenir el sufrimiento humano. Más recientemente, los biotecnólogos han utilizado el rápido crecimiento bacteriano y su flexibilidad metabólica para insertar en las células bacterianas genes que codifican hormonas, vacunas y otros productos de uso humano.

Arqueas

Las arqueas sólo se reconocieron como grupo diferenciado de organismos en 1977, año en que Carl Woese analizó moléculas específicas de ácido nucleico. La comparación de las propiedades moleculares de las arqueas con las de las bacterias y los eucariotas ha demostrado que las arqueas están en muchos aspectos más cerca de los eucariotas que de las bacterias de apariencia similar. Por ejemplo, el sistema de síntesis de proteínas de las arqueas es más parecido al de los eucariotas.

Una característica destacada de la mayoría de las arqueas es su capacidad para ocupar y hasta mejorar en todos los hábitat. Denominadas frecuentemente **extremófilas**, algunas especies de arqueas pueden vivir en circunstancias que fácilmente destruirían a la mayoría de las formas vivas. Aunque otras clases de organismos (p. ej., determinadas bacterias, algas y hongos) pueden vivir en condiciones extremas, las arqueas se encuentran entre las especies más extremófilas. Los extremófilos se clasifican de acuerdo con las condiciones especiales en las que viven: temperaturas muy altas o muy bajas, concentraciones salinas elevadas, presión elevada. Las investigaciones de las arqueas extremófilas también han permitido conocimientos singulares sobre las adaptaciones de la estructura biomolecular a las condiciones extremas, además de proporcionar un conocimiento considerable de la historia de la vida sobre la Tierra (véase el recuadro de interés especial 2-1). Los esfuerzos investigadores de los bioquímicos y los biotecnólogos se han centrado en las **extremozimas**, que son enzimas (catalizadores proteicos) que operan en condiciones nocivas. Entre los ejemplos de las aplicaciones industriales de este trabajo están las enzimas que se utilizan en el procesamiento de los alimentos y los detergentes de lavandería. Junto con muchas especies bacterianas, las arqueas han demostrado su utilidad en la **biorreparación**, proceso en el que se utilizan los organismos para degradar o eliminar los contaminantes de los lugares de desechos tóxicos y los vertidos de petróleo.

Eucariotas

El tercer dominio de los seres vivos, los eucariotas, está constituido por el resto de las especies de la Tierra (Fig. 1-3). Aunque la presencia o ausencia de un núcleo es la diferencia más notable entre los procariotas y los eucariotas, existen otras distinciones significativas:

1. **Tamaño**. Las células eucariotas son sustancialmente más grandes que las células procariotas. Por ejemplo, el diámetro de las células animales varía entre 10 y 30 μm. Estos valores son aproximadamente 10 veces superiores que los de los procariotas. Sin embargo, es más clara la disparidad de tamaño entre los dos tipos de células cuando se considera el volumen. Por ejemplo, el volumen de una célula eucariota típica, como una célula hepática (hepatocito), se encuentra entre 6000 y 10 000 μm^3. El volumen de *E. coli* es varios centenares de veces menor.
2. **Complejidad**. La complejidad estructural de los eucariotas es notable. Además de un núcleo bien formado, se encuentran presentes varias estructuras subcelulares denominadas **orgánulos**. Cada orgánulo está especializado en la realización de tareas específicas. La compartimentalización que proporcionan los orgánulos permite la concentración de las moléculas de reactante y producto en lugares donde pueden utilizarse con eficacia. Esto, junto con otros factores, hacen posible la existencia de mecanismos reguladores complicados. Como consecuencia, las células de los eucariotas multicelulares son capaces de responder con rapidez y eficacia a las comunicaciones intercelulares que se requieren para la proliferación y el desarrollo.
3. **Multicelularidad**. Sólo en los eucariotas se encuentra una multicelularidad verdadera. Aunque los protistas unicelulares muy complejos constituyen la mayor biomasa de los eucariotas, todas las categorías restantes son multicelulares. Algunas bacterias tienen un hábito de vida colonial, especialmente sobre los medios sólidos, pero en pocas ocasiones se consigue la cooperatividad y especialización de la multicelularidad. Los organismos multicelulares no sólo son un conjunto de células: son sistemas vivos muy ordenados que juntos forman una entidad coherente. La complejidad estructural de las células eucariotas proporciona la capacidad que requieren los mecanismos complicados de comunicación intercelular en estos organismos.

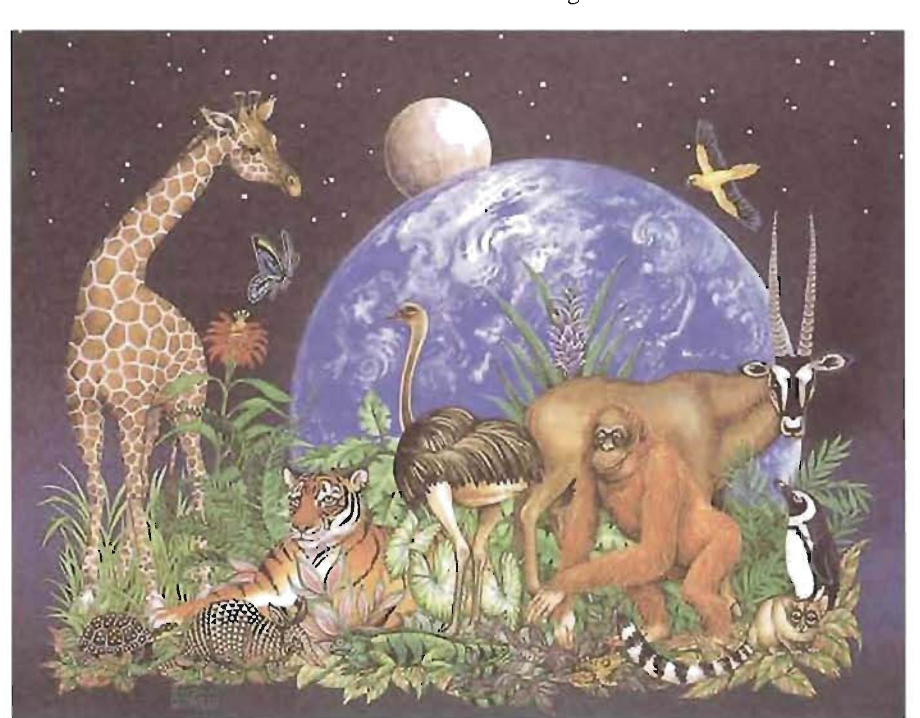


FIGURA 1-3

Biodiversidad

La Tierra está poblada por muchos millones de especies que habitan todos los nichos del planeta. Sin embargo, la mayoría de las especies son demasiado pequeñas para poder ser vistas por el ojo humano. En esta figura, sólo se indican los representantes de los grandes eucariotas multicelulares, los más conocidos por el ser humano.

Virus

Los virus no son seres vivos, aunque pueden desorganizar los procesos dentro de los seres vivos por medio de reacciones bioquímicas. Formados por DNA o RNA envuelto en una proteína o una membrana, los virus son agentes infecciosos que se autorreproducen insertando su información genética en células hospedadoras susceptibles. Los genes víricos pueden permanecer durmientes en el DNA de la célula durante períodos de tiempo largos o pueden empezar inmediatamente a dirigir la producción de cantidades masivas de ácido nucleico y componentes proteicos que se ensamblan en nuevas partículas del virus. Una vez ha empezado una infección vírica manifiesta, la célula está, en efecto, secuestrada. Los genes del virus emplean la maquinaria de la célula para su propio uso. Como consecuencia de la infección vírica, las células pueden dañarse o destruirse.

Los virus son parásitos intracelulares que infectan a casi todas las clases de organismos. Sin embargo, cada tipo de virus normalmente sólo infecta a una especie o a unas pocas especies semejantes. Con frecuencia las infecciones víricas producen enfermedades. Entre las enfermedades infecciosas humanas producidas por virus se encuentran el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la polio, la rabia, varios tipos de hepatitis y el resfriado común. Las enfermedades animales y vegetales producidas por virus causan un daño inmenso a la agricultura. Sin embargo, los virus hacen algo más que producir enfermedades. Pueden ser también agentes de modificaciones genéticas. En ocasiones, cuando se producen viroides (partículas víricas) nuevos, éstos incorporan de forma inadvertida parte del material genético de la célula hospedadora. A continuación, esta información se transmite a una célula hospedadora nueva. En circunstancias poco habituales se transfiere a una especie diferente. Este proceso, que se denomina **transducción**, es una fuente de variación genética que impulsa los cambios evolutivos.

Los bioquímicos han utilizado a los virus como herramientas en sus investigaciones de numerosos procesos vivos. Por ejemplo, las investigaciones de los bacteriófagos (virus que infectan a las bacterias) han aportado un conocimiento inestimable sobre los mecanismos genéticos básicos. En las investigaciones sobre los detalles de la expresión del procesamiento de la información genética y otros aspectos del metabolismo celular se han utilizado virus animales. Actualmente, se está utilizando la capacidad de los virus para infectar a determinadas células humanas como mecanismo en los protocolos de la genoterapia.

CONCEPTOS CLAVE 1.2

Los seres vivos se han clasificado en tres dominios: bacterias, arqueas y eucariotas. Los virus son parásitos intracelulares que sólo pueden autorreproducirse insertando su información genética en una célula viva.

1.2. BIOMOLÉCULAS

Los seres vivos están formados por miles de clases diferentes de moléculas inorgánicas y orgánicas. El agua, una molécula inorgánica, puede constituir entre el 50 y el 95 % del contenido en peso de una célula, y los iones como el sodio (Na^+), el potasio (K^+), el magnesio (Mg^{2+}) y el calcio (Ca^{2+}) pueden representar otro 1 %. Casi todas las demás clases de moléculas orgánicas están formadas principalmente por seis elementos: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre, y contienen cantidades mínimas de determinados elementos metálicos y otros no metálicos. Es notable el hecho de que los átomos de cada uno de los elementos más comunes que se encuentran en los seres vivos puedan formar fácilmente enlaces covalentes estables. En los enlaces covalentes, los átomos están unidos al compartir los electrones que completan los orbitales más externos de cada átomo.

La capacidad de los átomos de carbono para formar cuatro enlaces covalentes sencillos fuertes, bien con otros átomos de carbono o con átomos de otros elementos, posibilita la notable complejidad estructural y la diversidad de las moléculas orgánicas. Las moléculas orgánicas con muchos átomos de carbono pueden dar lugar a formas complicadas, como largas estructuras lineales o cadenas ramificadas y anillos.

Grupos funcionales de las biomoléculas orgánicas

La mayoría de las biomoléculas pueden considerarse derivadas del tipo más simple de moléculas orgánicas, que son los **hidrocarburos**. Los hidrocarburos (Fig. 1-4) son moléculas que contienen carbono e hidrógeno y que son **hidrófobas**, lo cual significa que son insolubles en agua. Todas las demás moléculas orgánicas se forman uniendo otros átomos o grupos de átomos al esqueleto carbonado de un hidrocarburo. Las propiedades químicas de estas moléculas derivadas están determinadas por la disposición específica de los átomos denominados **grupos funcionales** (Cuadro 1-1). Por ejemplo, los alcoholes se producen cuando los átomos de hidrógeno se sustituyen por grupos hidroxilo (—OH). Así, el metano (CH_4), un componente del gas natural, puede convertirse en metanol (CH_3OH), un líquido tóxico que se utiliza como disolvente en muchos procesos industriales.

La mayoría de las biomoléculas contienen más de un grupo funcional. Por ejemplo, muchas moléculas sencillas de azúcar tienen varios grupos hidroxilo y un grupo aldehído. Los aminoácidos, que son los bloques de construcción de las proteínas, tienen un grupo amino y un grupo carboxilo. Las propiedades químicas de cada grupo funcional contribuyen al comportamiento de las moléculas que lo contienen.

Metano: CH_4 (H—C—H con H arriba y abajo)
Etano: H—C—C—H
Hexano: H—C—C—C—C—C—C—H
Ciclohexano: anillo de seis CH_2

FIGURA 1-4
Fórmulas estructurales de varios hidrocarburos.

CUADRO 1-1
Grupos funcionales importantes de las biomoléculas

Nombre de la familia	Estructura del grupo	Nombre del grupo	Significado
Alcohol	R—OH	Hidroxilo	Polar (y por lo tanto hidrosoluble), forma enlaces de hidrógeno
Aldehído	R—C(=O)—H	Carbonilo	Polar, se encuentra en algunos azúcares
Cetona	R—C(=O)—R′	Carbonilo	Polar, se encuentra en algunos azúcares
Ácidos	R—C(=O)—OH	Carboxilo	Débilmente ácido, lleva una carga negativa cuando dona un protón
Aminas	R—NH_2	Amino	Débilmente básico, lleva una carga positiva cuando acepta un protón
Amidas	R—C(=O)—NH_2	Amido	Polar, pero no lleva carga
Tioles	R—SH	Tiol	Fácilmente oxidable; puede formar fácilmente enlaces —S—S— (disulfuro)
Ésteres	R—C(=O)—O—R	Éster	Se encuentran en determinadas moléculas lipídicas
Doble enlace	RCH=CHR	Alqueno	Componente estructural importante de muchas biomoléculas; p. ej., se encuentra en moléculas lipídicas

Principales clases de biomoléculas

Muchos de los compuestos orgánicos que se encuentran en las células son relativamente pequeños, con pesos moleculares inferiores a 10 000 dalton (D). (Un dalton, 1 unidad de masa atómica es igual a 1/12 de la masa de un átomo de ^{12}C). Las células contienen cuatro familias de moléculas pequeñas: aminoácidos, azúcares, ácidos grasos y nucleótidos (Cuadro 1-2). Los miembros de cada grupo desempeñan varias funciones. En primer lugar, se utilizan en la síntesis de moléculas mayores, muchas de las cuales son polímeros. Por ejemplo, las proteínas, determinados hidratos de carbono y los ácidos nucleicos son polímeros formados, respectivamente, por aminoácidos, azúcares y nucleótidos. Los ácidos grasos son componentes de varias clases de moléculas de lípidos (insolubles en agua).

En segundo lugar, algunas moléculas tienen funciones biológicas especiales. Por ejemplo, el nucleótido adenosina trifosfato (ATP) opera como reserva celular de energía química. Finalmente, muchas moléculas orgánicas pequeñas participan en las rutas de reacciones. En las cuatro secciones siguientes se describen ejemplos de cada clase.

AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS Existen cientos de aminoácidos naturales, cada uno de los cuales contiene un grupo amino y un grupo carboxilo. Los aminoácidos se clasifican como α, β o γ, de acuerdo con la posición del grupo amino con referencia al grupo carboxilo. En los aminoácidos α, la clase más frecuente, el grupo amino está unido al átomo de carbono (carbono α) inmediatamente adyacente al grupo carboxilo (Fig. 1-5). En los aminoácidos β y γ, el grupo amino está unido a los carbonos segundo y tercero, respectivamente, a partir del grupo carboxilo. Unido también al carbono α está otro grupo, que se denomina cadena lateral o grupo R. Las propiedades químicas de cada aminoácido están determinadas en gran medida por las propiedades de su cadena lateral. Por ejemplo, algunas cadenas laterales son hidrófobas, mientras que otras son **hidrófilas** (es decir, se disuelven fácilmente en agua). La fórmula general de los aminoácidos α es

$$H_2N-\overset{\alpha}{\underset{R}{\underset{|}{C}}}H-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$$

Existen 20 aminoácidos α estándar en las proteínas. Algunos aminoácidos estándar tienen funciones singulares en los seres vivos. Por ejemplo, la glicina y el ácido glutámico actúan como neurotransmisores en los animales. (Los **neurotransmisores** son moléculas señalizadoras liberadas por las células nerviosas). Las proteínas contienen también aminoácidos no estándar que son versiones modificadas de los aminoácidos estándar. La estructura y función de las moléculas proteicas con frecuencia se altera por la conversión de determinados residuos de aminoácidos en

CUADRO 1-2

Clases principales de biomoléculas

Molécula pequeña	Polímero	Funciones generales
Aminoácidos	Proteínas	Catálisis y elementos estructurales
Azúcares	Hidratos de carbono	Fuentes energéticas y elementos estructurales
Ácidos grasos	N.A.	Fuentes energéticas y elementos estructurales de las moléculas lipídicas complejas
Nucleótidos	DNA RNA	Información genética Síntesis de proteínas

Glutamina

Valina

Lisina

Glicina

Fenilalanina

Serina

FIGURA 1-5

Fórmulas estructurales de varios aminoácidos α

Se resaltan los grupos R. El grupo R en las estructuras de los aminoácidos puede ser un átomo de hidrógeno (p. ej., en la glicina), un grupo hidrocarbonado (p. ej., el grupo isopropilo en la valina) o un derivado hidrocarbonado (p. ej., el grupo hidroximetilo en la serina).

derivados fosforilados, hidroxilados o de otro tipo. (El término «residuo» indica una biomolécula pequeña que se ha incorporado a una macromolécula, p. ej., los residuos de aminoácido de una proteína.) Por ejemplo, en el colágeno, la proteína del tejido conjuntivo, un gran número de los residuos de prolina están hidroxilados. Muchos de los aminoácidos naturales no son aminoácidos α. Entre los ejemplos más notables se encuentra la β-alanina, precursor de la vitamina ácido pantoténico, y el ácido γ-aminobutírico (GABA), un neurotransmisor que se encuentra en el cerebro (Fig. 1-6).

Las moléculas de aminoácido se utilizan principalmente para la síntesis de largos polímeros complejos denominados **polipéptidos**. Los polipéptidos cortos, con una longitud inferior a 50 aminoácidos, se denominan **péptidos**. A los polipéptidos más largos se les suele denominar **proteínas**. Los polipéptidos desempeñan una gran variedad de funciones en los seres vivos. Entre los ejemplos de moléculas formadas por polipéptidos se encuentran las proteínas de transporte, las proteínas estructurales y las enzimas.

Los aminoácidos individuales están unidos en péptidos (Fig. 1-7) y polipéptidos mediante el **enlace peptídico**, un enlace amida que se forma en una clase de reacción de sustitución nucleófila (pág. 17) con participación de un grupo carbonilo, que se produce entre el grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro. El carácter parcial de doble enlace del enlace peptídico da lugar a una disposición en el plano de los átomos HN-CO que da a las moléculas polipeptídicas una estabilidad

β-Alanina

GABA

FIGURA 1-6

Ejemplos seleccionados de aminoácidos naturales que no son aminoácidos α: β-alanina y ácido γ-aminobutírico (GABA)

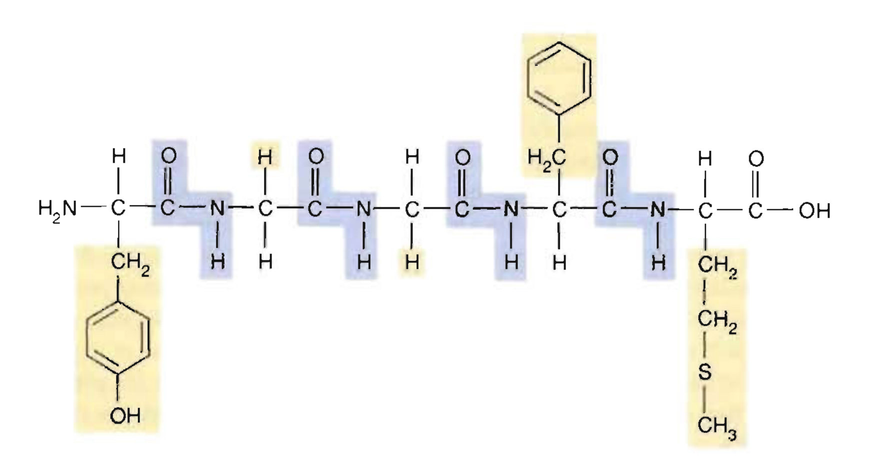


FIGURA 1-7

Estructura de la met-encefalina, un pentapéptido

La met-encefalina pertenece a una clase de moléculas que poseen actividad opioide. La met-encefalina se encuentra en el cerebro e inhibe la percepción del dolor. (Los enlaces peptídicos están coloreados. Los grupos R están subrayados.)

FIGURA 1-8
Estructura polipeptídica
Al plegarse el polipéptido en su estructura tridimensional singular, los grupos R más hidrófobos (esferas amarillas) quedan enterrados en el interior lejos del agua. Los grupos hidrófilos normalmente se encuentran en la superficie.

Desplegada

Plegada

suficiente en condiciones fisiológicas. El carbono α aporta flexibilidad a la cadena polipeptídica debido a la rotación libre de los enlaces en este carbono.

La estructura tridimensional final y, como consecuencia, la función biológica, de los polipéptidos se debe, en gran medida, a las interacciones entre los grupos R (Fig. 1-8).

AZÚCARES E HIDRATOS DE CARBONO Los azúcares contienen grupos funcionales alcohol y carbonilo. Se describen en función del número de carbonos y de la clase de grupo carbonilo que contienen. Los azúcares que poseen un grupo aldehído se denominan aldosas, y aquellos que poseen un grupo cetona se denominan cetosas. Por ejemplo, el azúcar glucosa de seis carbonos (una fuente de energía importante en la mayoría de los seres vivos) es una aldohexosa (Fig. 1-9). La fructosa (azúcar de la fruta) es una cetohexosa.

Los azúcares son las unidades básicas de los hidratos de carbono, las moléculas orgánicas más abundantes de la naturaleza. Los hidratos de carbono van desde los azúcares sencillos, o **monosacáridos**, como la glucosa y la fructosa, a los **polisacáridos**, polímeros que contienen miles de unidades azúcar. Entre estos últimos se encuentran el almidón y la celulosa de las plantas y el glucógeno de los animales. Los hidratos de carbono desempeñan varias funciones en los seres vivos. Determinados azúcares son fuentes de energía importantes. La glucosa es la fuente de energía hidrocarbonada en los animales y las plantas. La sacarosa es utilizada por muchas plantas como un medio eficaz de transporte de energía por sus tejidos. Algunos hidratos de carbono actúan como materiales estructurales. La celulosa es el principal componente estructural de la madera y de determinadas fibras de las plantas. La quitina, otro tipo de polisacárido, se encuentra en las cubiertas protectoras exteriores de los insectos y los crustáceos.

```
       H                  H
       |                  |
       C=O            H—C—OH              H                 H
       |                  |               |                 |
   H—C—OH               C=O              C=O               C=O
       |                  |               |                 |
  HO—C—H             HO—C—H          H—C—OH              CH2
       |                  |               |                 |
   H—C—OH            H—C—OH          H—C—OH           H—C—OH
       |                  |               |                 |
   H—C—OH            H—C—OH          H—C—OH           H—C—OH
       |                  |               |                 |
   H—C—OH            H—C—OH          H—C—OH           H—C—OH
       |                  |               |                 |
       H                  H               H                 H
```

Glucosa (una aldohexosa) — **Fructosa (una cetohexosa)** — **Ribosa (una aldopentosa)** — **2-Desoxirribosa (una aldopentosa)**

FIGURA 1-9

Ejemplos de varios monosacáridos de importancia biológica

La glucosa y la fructosa son fuentes importantes de energía en los animales y los vegetales. La ribosa y la desoxirribosa son componentes de los ácidos nucleicos. Estos monosacáridos se encuentran en la naturaleza en forma de estructuras de anillo.

Algunas biomoléculas contienen componentes hidrocarbonados. Los nucleótidos, los bloques de construcción de los ácidos nucleicos, contienen los azúcares ribosa o desoxirribosa. Determinadas proteínas contienen también hidratos de carbono. Las glucoproteínas y los glucolípidos se encuentran en la superficie externa de las membranas celulares de los organismos multicelulares, donde desempeñan funciones decisivas en las interacciones entre las células.

ÁCIDOS GRASOS Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos que generalmente contienen un número par de átomos de carbono. En algunos organismos actúan como fuentes de energía. Los ácidos grasos están representados por la fórmula química R—COOH, en la que R es un grupo alquilo que contiene átomos de carbono e hidrógeno. Existen dos tipos de ácidos grasos: ácidos grasos **saturados**, que no contienen dobles enlaces carbono-carbono, y ácidos grasos **insaturados**, que poseen uno o varios dobles enlaces (Fig. 1-10). En condiciones fisiológicas el grupo carboxilo de los ácidos grasos se encuentra en el estado ionizado, $R—COO^-$. Por ejemplo, el ácido graso saturado de 16 carbonos, denominado ácido palmítico, se encuentra como palmitato, $CH_3(CH_2)_{14}COO^-$. Aunque el grupo carboxilo cargado tiene afinidad por el agua, las largas cadenas hidrocarbonadas apolares hacen a la mayoría de los ácidos grasos insolubles en agua.

Los ácidos grasos sólo se encuentran como moléculas independientes (libres) en los seres vivos en cantidades mínimas. La mayoría se encuentra como componente de varias clases de moléculas **lipídicas** (Fig. 1-11). Los lípidos son un grupo diverso de sustancias solubles en disolventes orgánicos, como el cloroformo o la acetona, e insolubles en agua. Por ejemplo, los triacilgliceroles (grasas y aceites) son ésteres que contienen glicerol (un alcohol de tres carbonos con tres grupos hidroxilo) y tres ácidos grasos. Determinadas moléculas de lípidos análogos a los triacilgliceroles, que se denominan fosfoglicéridos, contienen dos ácidos grasos. En estas moléculas

$$CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}—OH$$

Ácido palmítico (saturado)

(a)

$$CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2—\overset{H}{\overset{|}{C}}=\overset{H}{\overset{|}{C}}—CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}—OH$$

Ácido oleico (insaturado)

(b)

FIGURA 1-10

Estructura de los ácidos grasos

(a) Ácido graso saturado; (b) ácido graso insaturado.

FIGURA 1-11
Moléculas lipídicas que contienen ácidos grasos
(a) Triacilglicerol; (b) fosfatidilcolina, una clase de fosfoglicérido.

(a) Triacilglicerol (b) Fosfatidilcolina

el tercer grupo hidroxilo del glicerol está acoplado con fosfato, el cual a su vez está unido a pequeños compuestos polares como la colina. Los fosfoglicéridos son componentes estructurales importantes de las membranas celulares.

NUCLEÓTIDOS Y ÁCIDOS NUCLEICOS Los nucleótidos contienen tres componentes: un azúcar de cinco carbonos (bien ribosa o desoxirribosa), una base nitrogenada, y uno o varios grupos fosfato (Fig. 1-12). Las bases de los nucleótidos son anillos aromáticos heterocíclicos con varios sustituyentes. Hay dos clases de bases: las purinas bicíclicas y las pirimidinas monocíclicas (Fig. 1-13).

FIGURA 1-12
Estructura de los nucleótidos
Cada nucleótido contiene una base nitrogenada (en este caso, adenina), un azúcar pentosa (ribosa), y uno o varios fosfatos. Este nucleótido es la adenosina trifosfato.

Adenina
Ribosa

FIGURA 1-13
Bases nitrogenadas
(a) Purinas y (b) pirimidinas.

(a) Adenina (A) Guanina (G)

(b) Timina (T) Citosina (C) Uracilo (U)

Los nucleótidos participan en una gran variedad de reacciones de biosíntesis y de generación de energía. Por ejemplo, una proporción sustancial de la energía que se obtiene de las moléculas del alimento se utiliza para formar los enlaces fosfato de energía elevada de la adenosina trifosfato (ATP). Sin embargo, la función más importante de los nucleótidos es actuar como bloques de construcción de los ácidos nucleicos. En una molécula de ácido nucleico, un gran número de nucleótidos (desde centenares a millones) están ligados por enlaces fosfodiéster para formar cadenas largas de polinucleótidos. Hay dos clases de ácido nucleico:

1. **DNA**. El DNA es el depositario de la información genética. Su estructura consta de dos cadenas de polinucleótidos enrolladas una alrededor de la otra para formar una doble hélice a derechas (Fig. 1-14). Además de la desoxirribosa y el fosfato, el DNA contiene cuatro clases de bases: las **purinas** adenina y guanina y las **pirimidinas** timina y citosina. La doble hélice se forma por el apareamiento complementario entre las bases mediante la formación de enlaces de hidrógeno. (Un enlace de hidrógeno es una fuerza de atracción entre el hidrógeno y átomos electronegativos como el oxígeno o el nitrógeno.) La adenina se aparea con la timina, y la guanina con la citosina. Cada gen está formado por una secuencia lineal de bases específica y singular. Aunque la mayoría de los genes codifican la secuencia lineal de aminoácidos de las proteínas, el DNA no está implicado directamente en la síntesis de proteínas. En su lugar, se utiliza otro tipo de ácido nucleico para convertir las instrucciones codificadas en el DNA en productos polipeptídicos.

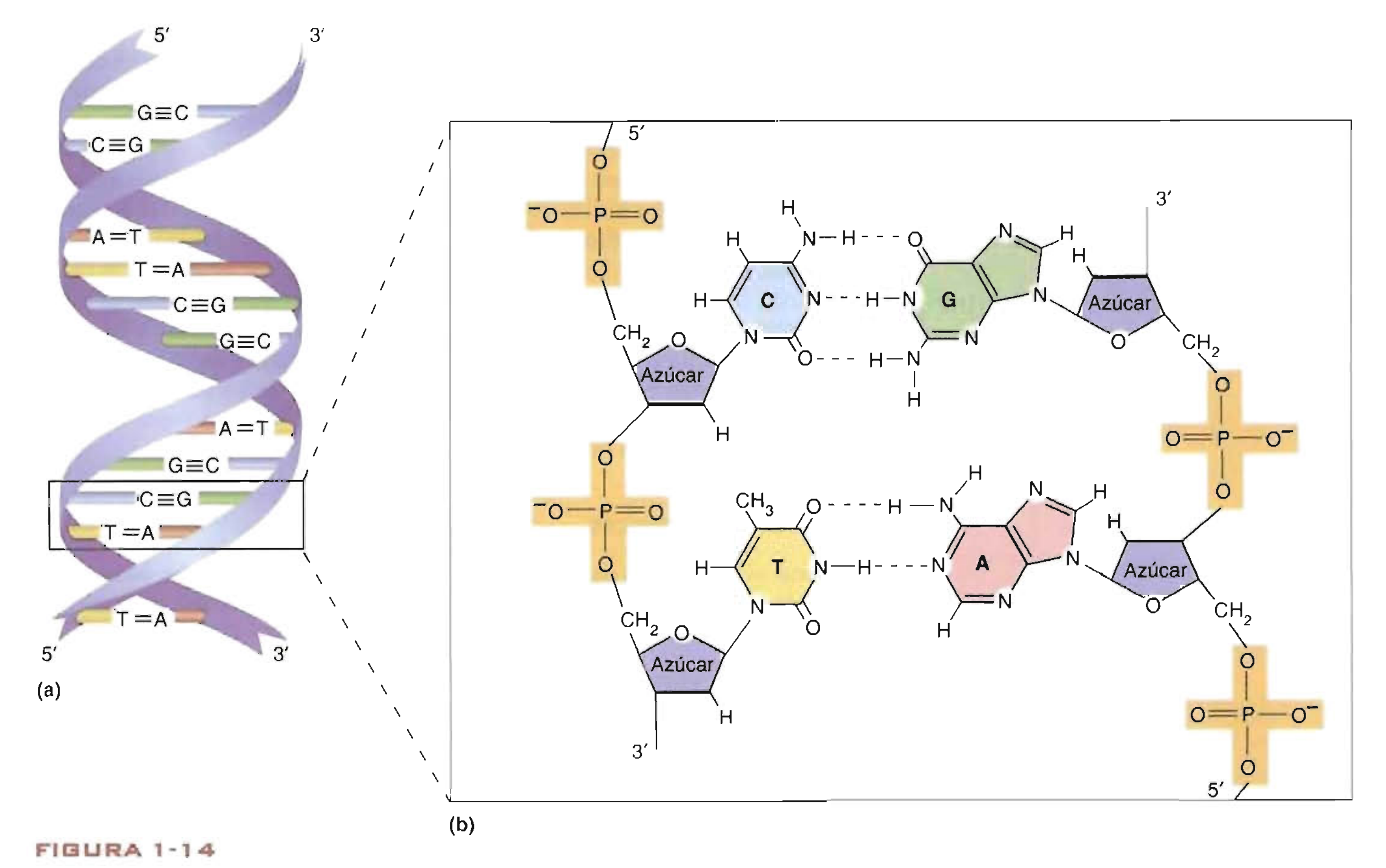


FIGURA 1-14

DNA

(a) Vista esquemática del DNA. Los esqueletos azúcar-fosfato de la doble hélice están representados por cintas coloreadas. Las bases unidas al azúcar desoxirribosa están en el interior de la hélice. (b) Vista ampliada de dos pares de bases. Obsérvese que las dos cadenas de DNA van en direcciones opuestas definidas por los grupos 5′ y 3′ de la desoxirribosa. Las bases en las cadenas opuestas forman pares debido a los enlaces de hidrógeno. La citosina siempre se aparea con la guanina y la timina siempre se aparea con la adenina.

2. **RNA**. El RNA es un polinucleótido que se diferencia del DNA en que contiene el azúcar ribosa en lugar de desoxirribosa, y la base uracilo en lugar de timina. En el RNA, como en el DNA, los nucleótidos están unidos por enlaces fosfodiéster. A diferencia de la doble hélice del DNA, el RNA es de cadena sencilla. Las moléculas de RNA se doblan en estructuras tridimensionales creadas por las regiones locales de apareamiento complementario de bases. Durante un proceso complejo, la doble hélice del DNA se desenrolla parcialmente y se sintetizan las moléculas de RNA utilizando una cadena de DNA como molde. Existen tres clases principales de RNA: RNA mensajero (mRNA), RNA ribosómico (rRNA) y RNA de transferencia (tRNA). Cada secuencia singular o molécula de mRNA posee la información que codifica directamente la secuencia de aminoácidos de un polipéptido específico. Los ribosomas, que son estructuras supramoleculares grandes y complejas formadas por rRNA y moléculas proteicas, convierten la secuencia de bases del mRNA en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido. Las moléculas de RNA de transferencia actúan como adaptadoras durante la síntesis de proteínas. Cada clase de molécula de tRNA se une a un aminoácido específico. Cada polipéptido se construye al traducirse en cada ribosoma la información de la secuencia de bases del mRNA por el apareamiento de bases entre las moléculas de mRNA y tRNA. Al aproximarse los aminoácidos se forman los enlaces peptídicos.

CONCEPTOS CLAVE 1.3

La mayoría de las moléculas de los seres vivos son orgánicas. Las propiedades químicas de las moléculas orgánicas están determinadas por las disposiciones específicas de los átomos, que se denominan grupos funcionales. Las células contienen cuatro familias de moléculas pequeñas: aminoácidos, azúcares, ácidos grasos y nucleótidos.

1.3. PROCESOS BIOQUÍMICOS

Todas las características de los seres vivos —su organización compleja y su capacidad para crecer y reproducirse— son el resultado de procesos bioquímicos coordinados y finalistas. El metabolismo, la suma total de estos procesos, es posible por el flujo de energía y nutrientes y por los miles de reacciones bioquímicas, cada una de ellas catalizada por una enzima específica. Las funciones primarias del metabolismo son: (1) la adquisición y utilización de energía, (2) la síntesis de moléculas necesarias para la estructura y el funcionamiento de las células (es decir, proteínas, hidratos de carbono, lípidos y ácidos nucleicos), (3) el crecimiento y desarrollo, y (4) la eliminación de los productos de desecho. Los procesos metabólicos requieren cantidades significativas de energía útil. Esta sección comienza con una revisión de las principales clases de reacciones químicas y las características esenciales de las estrategias que generan energía que se observan en los seres vivos, y posteriormente se delinean brevemente los procesos metabólicos y los medios por los cuales los seres vivos mantienen sistemas ordenados.

Reacciones bioquímicas

A primera vista las miles de reacciones que tienen lugar en las células parecen ser extremadamente complejas. Sin embargo, varias características del metabolismo nos permiten simplificar en gran medida este cuadro:

1. Aunque el número de reacciones es muy grande, el número de clases de reacciones es relativamente pequeño.
2. Las reacciones bioquímicas tienen mecanismos sencillos propios de las reacciones orgánicas (es decir, una enzima normalmente sólo hace una cosa).
3. Son relativamente pocas las reacciones de importancia central en Bioquímica (es decir, aquellas que se utilizan en la producción de energía y la síntesis y degradación de los principales componentes celulares).

Entre las clases de reacción más comunes que se encuentran en los procesos bioquímicos se encuentran las siguientes: (1) sustitución nucleófila, (2) eliminación, (3) adición, (4) isomerización, (5) oxidación-reducción. Cada una se describirá de forma breve.

REACCIONES DE SUSTITUCIÓN NUCLEÓFILA En las reacciones de **sustitución nucleófila**, como sugiere el nombre, se sustituye un átomo o grupo por otro:

$$A\colon + B{-}X \longrightarrow A{-}B + X\colon$$

En la reacción general que se muestra más arriba, la especie atacante (A) se denomina **nucleófilo** («amante del núcleo»). Los nucleófilos son aniones (átomos o grupos con carga negativa) o especies neutras que poseen pares electrónicos no enlazantes. Los **electrófilos** («amantes de los electrones») son deficitarios en densidad electrónica y, por lo tanto, fácilmente atacables por un nucleófilo. Al formarse un enlace nuevo entre A y B, se rompe el viejo entre B y X. El nucleófilo que sale (en este caso, X) se denomina **grupo de salida**.

Un ejemplo importante de sustitución nucleófila es la reacción de la glucosa con el ATP (Fig. 1-15). En esta reacción, que es el primer paso en la utilización de la glucosa como fuente de energía, el oxígeno del hidroxilo del carbono 6 de la molécula de azúcar es el nucleófilo, y el fósforo el electrófilo. El grupo de salida es la adenosina difosfato.

Las reacciones de **hidrólisis** son una clase de reacción de sustitución nucleófila en la que el oxígeno de una molécula de agua es el nucleófilo. El grupo carbonilo de un éster, una amida o un anhídrido es normalmente el electrófilo.

$$R{-}\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}{-}O{-}R' + H_2O \longrightarrow R{-}\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}{-}OH + R'OH$$

La digestión de muchas moléculas del alimento implica una hidrólisis. Por ejemplo, las proteínas se degradan en el estómago en una reacción catalizada por ácido. Otro ejemplo importante es la fragmentación del enlace fosfato del ATP (Fig. 1-16). La energía que se obtiene durante esta reacción se utiliza para impulsar muchos procesos celulares.

Glucosa + Adenosina trifosfato → Glucosa-6-fosfato + Adenosina difosfato + H^+

FIGURA 1-15

Ejemplo de sustitución nucleófila

En la reacción de la glucosa con el ATP, el oxígeno del hidroxilo de la glucosa es el nucleófilo. El átomo de fósforo (el electrófilo) está polarizado por el oxígeno enlazado, de forma que lleva una carga positiva parcial. Al producirse la reacción, el par de electrones sin compartir sobre el CH_2OH del azúcar ataca al fósforo, dando lugar a la expulsión del ADP, el grupo de salida.

FIGURA 1-16
Reacción de hidrólisis
La hidrólisis del ATP se utiliza para impulsar una sorprendente diversidad de reacciones bioquímicas que requieren energía.

Adenosina trifosfato

Adenosina difosfato + Fosfato inorgánico + Energía + H^+

REACCIONES DE ELIMINACIÓN En las reacciones de **eliminación**, cuando se eliminan los átomos de una molécula se forma un doble enlace.

$$H{-}CHA{-}CHB{-}H \longrightarrow H{-}CH{=}CH{-}H + A^+ + B^-$$

La eliminación de H_2O de las biomoléculas que contienen grupos funcionales alcohol es una reacción que se encuentra comúnmente. Un ejemplo señalado de esta reacción es la deshidratación del 2-fosfoglicerato, un paso importante en el metabolismo de los hidratos de carbono (Fig. 1-17). Otros productos de las reacciones de eliminación son el amoníaco (NH_3), las aminas (RNH_2) y los alcoholes (ROH).

FIGURA 1-17
Reacción de eliminación
Cuando se deshidrata el 2-fosfoglicerato se forma un doble enlace.

2-Fosfoglicerato → (H_2O) → Fosfoenolpiruvato

REACCIONES DE ADICIÓN En las **reacciones de adición** se combinan dos moléculas para formar un solo producto.

$$H_2C{=}CH_2 + A{-}B \longrightarrow H_2C(A){-}CH_2(B)$$

La **hidratación** es una de las reacciones de adición más comunes. Cuando se añade agua a un alqueno se produce un alcohol. Un ejemplo característico es la hidratación del intermediario metabólico fumarato para formar malato (Fig. 1-18).

REACCIONES DE ISOMERIZACIÓN Las reacciones de **isomerización** suponen el desplazamiento de átomos o grupos. Una de las isomerizaciones bioquímicas más comunes es la interconversión entre los azúcares aldosas y cetosas (Fig. 1-19).

REACCIONES DE OXIDACIÓN-REDUCCIÓN Las **reacciones de oxidación-reducción** (también denominadas reacciones redox) se producen cuando hay una transferencia de electrones desde un donador (denominado **agente reductor**) a un aceptor (denominado **agente oxidante**). Cuando los agentes reductores donan sus electrones, quedan **oxidados**. Al aceptar electrones, los agentes oxidantes quedan **reducidos**. Los dos procesos se producen siempre de forma simultánea.

No siempre es fácil determinar si las biomoléculas han ganado o perdido electrones. Sin embargo, pueden utilizarse dos reglas sencillas para averiguar si una molécula ha sido oxidada o reducida:

1. Se produce una oxidación cuando una molécula gana oxígeno o pierde hidrógeno:

$$CH_3CH_2{-}OH \longrightarrow CH_3C({=}O){-}OH$$

Alcohol etílico → **Ácido acético**

2. Se produce una reducción cuando una molécula pierde oxígeno o gana hidrógeno:

$$CH_3C({=}O){-}OH \longrightarrow CH_3CH_2{-}OH$$

Ácido acético → **Alcohol etílico**

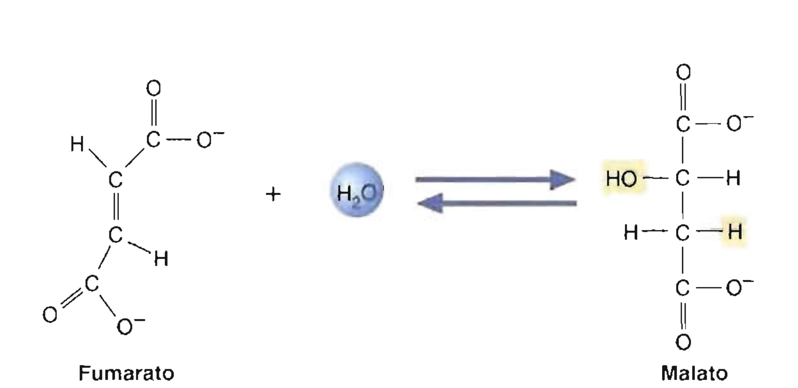


FIGURA 1-18
Reacción de adición
Cuando se añade agua a una molécula que contiene un doble enlace, como el fumarato, se produce un alcohol.

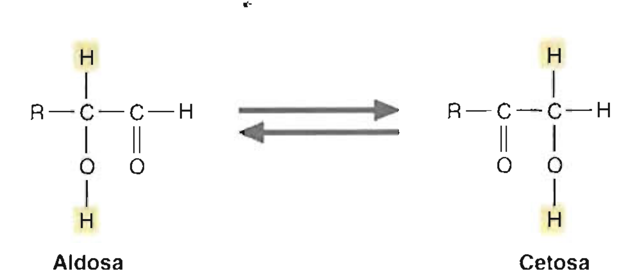


FIGURA 1-19

Reacción de isomerización

Una clase de reacción bioquímica que se observa con frecuencia es la interconversión reversible de los isómeros de aldosa y cetosa.

CONCEPTOS CLAVE 1.4

Las clases de reacciones más comunes que se encuentran en los procesos bioquímicos son la sustitución nucleófila, la eliminación, la adición, la isomerización y la oxidación-reducción.

En las reacciones biológicas redox, los electrones se transfieren a aceptores electrónicos como el nucleótido NAD^+/NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina en su forma oxidada/reducida).

Energía

Se define la **energía** como la capacidad para realizar trabajo, es decir, mover la materia. A diferencia de las máquinas fabricadas por el hombre, que generan y utilizan la energía en condiciones duras con temperaturas, presiones y corrientes eléctricas elevadas, las máquinas moleculares relativamente frágiles de los seres vivos deben utilizar mecanismos más sutiles. Las células generan la mayoría de su energía utilizando reacciones redox en las que se transfieren electrones desde una molécula oxidable a una molécula con deficiencia de electrones. En estas reacciones, los electrones con frecuencia se eliminan o añaden en forma de átomos de hidrógeno (H•) o iones hidruro (H^-). Cuanto más reducida está una molécula, es decir, cuantos más átomos de hidrógeno posee, más energía contiene. Por ejemplo, los ácidos grasos contienen proporcionalmente más átomos de hidrógeno que los azúcares y por lo tanto rinden con la oxidación más energía que las moléculas de azúcar. Cuando se oxidan los ácidos grasos y los azúcares, sus átomos de hidrógeno se eliminan por las coenzimas redox FAD (dinucleótido de flavina y adenina) o NAD^+, respectivamente. (Las coenzimas son moléculas pequeñas que operan asociadas con las enzimas y sirven como transportadoras de grupos moleculares pequeños o, en este caso, electrones.) Los productos reducidos de este proceso ($FADH_2$ o NADH, respectivamente) pueden luego transferir los electrones a otro aceptor electrónico.

Siempre que se transfiere un electrón se pierde energía. Las células poseen mecanismos complejos para explotar este fenómeno, de forma que parte de la energía liberada puede capturarse para el trabajo celular. La característica más destacada de la generación de energía en la mayoría de las células es la ruta de transporte electrónico, una serie de moléculas transportadoras de electrones ligadas y embebidas en la membrana. Durante un proceso regulado, se libera la energía al transferirse los electrones desde una molécula transportadora de electrones a otra. Durante varias de estas reacciones redox, la energía que se libera es suficiente para impulsar la síntesis de ATP, la molécula transportadora de energía que suministra directamente la energía que se utiliza para mantener la gran organización de las estructuras celulares y las funciones celulares.

A pesar de sus muchas semejanzas, los distintos seres vivos difieren en las estrategias precisas que emplean para adquirir la energía de su entorno. Los **autótrofos** son organismos que transforman la energía del sol (**fotoautótrofos**) o diversas sustancias químicas (**quimioautótrofos**) en energía de enlace químico. Los **heterótrofos** obtienen energía degradando moléculas de alimento ya formadas como única fuente de energía. Algunos procariotas y un pequeño número de plantas (p. ej., la planta carnívora que digiere los insectos capturados) son **fotoheterótrofos**, es decir, utilizan como fuentes de energía tanto la luz como las biomoléculas orgánicas.

La fuente última de la energía que utilizan la mayoría de las formas de vida sobre la Tierra es el Sol. Los organismos fotosintetizadores como los vegetales, determinados procariotas y las algas, captan la energía luminosa y la utilizan para transformar el dióxido de carbono (CO_2) en azúcares y otras biomoléculas. Entre los procariotas hay especies quimiótrofas que no obtienen energía del sol. Situadas en lugares exóticos, como los manantiales calientes o enterradas en los estratos rocosos, obtienen la ener-

gía requerida para incorporar el CO_2 a las biomoléculas orgánicas oxidando sustancias inorgánicas como el ácido sulfhídrico (SH_2), el nitrito (NO_2^-) o el gas hidrógeno (H_2). La biomasa producida en ambos tipos de procesos es, a su vez, consumida por organismos heterótrofos que la utilizan como fuente de energía y de materiales estructurales. En cada paso, al reagruparse los enlaces moleculares, parte de la energía se pierde en forma de calor. Antes de que suceda esto, las células utilizan la energía capturada para mantener sus estructuras y actividades complejas. Las rutas metabólicas por las que los seres vivos generan y utilizan la energía se bosquejan brevemente en la sección sobre Metabolismo. Las descripciones de los mecanismos básicos mediante los cuales se mantiene el orden celular constituyen la sección Orden Biológico.

CONCEPTOS CLAVE 1.5

En los seres vivos la energía, la capacidad para mover la materia, normalmente se genera mediante reacciones redox.

Metabolismo

El metabolismo, la suma de todas las reacciones catalizadas por enzimas de un ser vivo, es una actividad coordinada y dinámica. Muchas de estas reacciones están organizadas en rutas. Cada ruta bioquímica está formada por varias reacciones que se producen secuencialmente, es decir, el producto de una reacción es el reactante de la reacción siguiente. Existen dos clases principales de rutas bioquímicas: anabólicas y catabólicas. En las **rutas anabólicas** o de biosíntesis, se sintetizan grandes moléculas complejas a partir de precursores más pequeños. Los bloques de construcción (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos) producidos o adquiridos del alimento se incorporan en moléculas grandes más complejas. Dado que la biosíntesis aumenta el orden y la complejidad, las rutas anabólicas requieren un aporte de energía. Entre los ejemplos de procesos anabólicos se encuentran la síntesis de polisacáridos y proteínas a partir de azúcares y aminoácidos, respectivamente. Durante las **rutas catabólicas** se degradan moléculas grandes complejas a productos más pequeños y sencillos. Algunas rutas catabólicas liberan energía. Una fracción de esta energía se captura y se utiliza para impulsar las reacciones anabólicas.

En la Figura 1-20 se explica la relación entre los procesos anabólicos y catabólicos. Al degradarse las moléculas nutrientes, la energía y el poder reductor se conservan en las moléculas de ATP y NADH, respectivamente. Los procesos de biosíntesis utilizan metabolitos del catabolismo, ATP sintetizado y NADPH (dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato reducido, una fuente de poder reductor, es decir, electrones de energía elevada), para crear estructuras y funciones complejas.

CONCEPTOS CLAVE 1.6

El metabolismo es la suma de todas las reacciones en un ser vivo. La mayoría de las reacciones bioquímicas pueden clasificarse como anabólicas (de biosíntesis) o catabólicas (de degradación).

Orden biológico

La unidad coherente que se observa en todos los seres vivos comporta la integración funcional de millones de moléculas. En otras palabras, la vida es una complejidad muy organizada. A pesar de la abundante diversidad de procesos vivos que contribuyen a generar y mantener el orden biológico, la mayoría puede clasificarse en las siguientes categorías: (1) síntesis de biomoléculas, (2) transporte de iones y moléculas a través de las membranas celulares, (3) producción de fuerza y movimiento, y (4) eliminación de desechos metabólicos y otras sustancias tóxicas. Cada una será considerada brevemente.

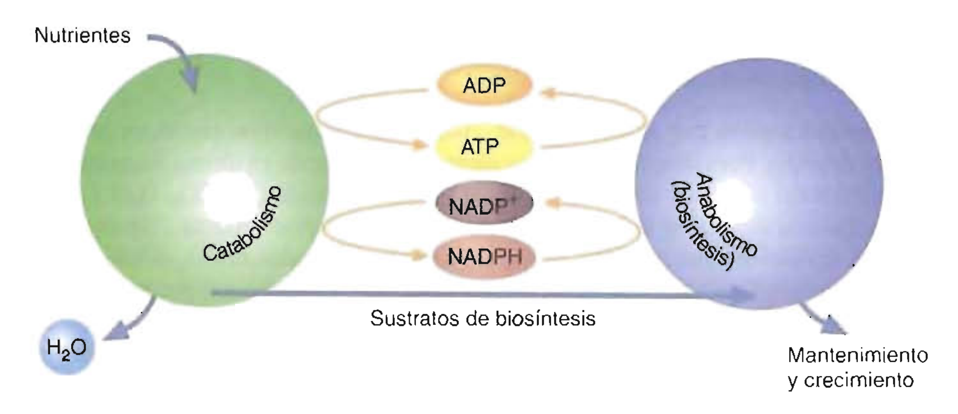


FIGURA 1-20

Anabolismo y catabolismo

En los organismos que utilizan oxígeno para generar energía, las rutas catabólicas transforman los nutrientes en moléculas pequeñas que son materiales de partida. La energía (ATP) y el poder reductor (NADPH) que impulsan las reacciones de biosíntesis se generan durante los procesos catabólicos al convertirse determinadas moléculas nutrientes en productos de desecho como el dióxido de carbono y el agua.

SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS Los componentes celulares se sintetizan en un enorme conjunto de reacciones químicas. Muchas de estas reacciones están integradas en rutas reguladas cuidadosamente en numerosos pasos. Por ejemplo, el nucleótido monofosfafo de adenosina se sintetiza en una ruta de 12 pasos. Debe señalarse que un gran número de reacciones de biosíntesis requieren energía, que se suministra de forma directa o indirecta por la fragmentación simultánea de los enlaces fosfoanhídrido de las moléculas de ATP.

Las moléculas que se forman en las reacciones de biosíntesis realizan varias funciones. Pueden ensamblarse en estructuras supramoleculares (p. ej., las proteínas y los lípidos que constituyen las membranas), utilizarse como moléculas de información (p. ej., el DNA y el RNA), o catalizar reacciones químicas (es decir, las enzimas).

TRANSPORTE A TRAVÉS DE LAS MEMBRANAS Las membranas celulares regulan el paso de iones y moléculas de un compartimiento a otro. Por ejemplo, la membrana plasmática (la membrana externa de la célula) es una barrera selectiva. Es responsable del transporte de determinadas sustancias, como los nutrientes, desde un entorno relativamente desorganizado al interior celular, más ordenado. De manera semejante se transportan los iones y las moléculas dentro y fuera de los orgánulos durante los procesos bioquímicos. Por ejemplo, los ácidos grasos se transportan dentro de un orgánulo denominado mitocondria de forma que puedan degradarse para generar energía.

La mayor parte del trabajo del transporte en una célula se realiza por proteínas unidas a la membrana. Cuando se transportan las sustancias en contra de un gradiente (es decir, desde un lugar de concentración baja a un lugar de concentración elevada) se requiere energía. Este proceso se denomina **transporte activo**. Por ejemplo, la bomba Na^+-K^+, un complejo proteico de la membrana plasmática, es responsable del mantenimiento de un gradiente iónico a través de la membrana celular. Este gradiente iónico proporciona la energía necesaria para muchos procesos de transporte activo y el potencial de reposo de membrana de las células excitables (células nerviosas y musculares). La bomba Na^+-K^+ utiliza al menos un tercio de la energía disponible para bombear Na^+ fuera de la célula y K^+ dentro de la célula. Por cada molécula de ATP hidrolizada, se bombean tres iones Na^+ fuera de la célula y se bombean dos iones K^+ al interior de la célula.

MOVIMIENTO CELULAR Una de las características más obvias de los seres vivos es el movimiento organizado. Las actividades complejas y coordinadas que se requieren para mantener la vida necesitan el movimiento de los componentes celulares. Entre los ejemplos se encuentran la división celular y el movimiento de los orgánulos. Ambos procesos dependen en gran medida de la estructura y función de una red compleja de filamentos proteicos conocida como *citoesqueleto*.

Las formas de movimiento celular influyen profundamente sobre la capacidad de todos los organismos para crecer, reproducirse y competir por unos recursos limitados. Entre los ejemplos, considérese el movimiento de los protistas en su búsqueda de alimento en una charca, o la migración de los leucocitos humanos en su persecución de células extrañas durante una infección. Otros ejemplos más sutiles son el movimiento de las enzimas específicas a lo largo de la molécula de DNA durante la replicación del cromosoma que precede a la división celular y la secreción de insulina por determinadas células pancreáticas.

ELIMINACIÓN DE RESIDUOS Todas las células vivas producen productos de desecho. Por ejemplo, las células animales convierten, en última instancia, las moléculas del alimento, como los azúcares y los aminoácidos, en CO_2, H_2O y NH_3. Estas moléculas, si no se eliminan adecuadamente, pueden ser tóxicas. Algunas sustancias se eliminan con facilidad. Por ejemplo, en los animales, el CO_2 difunde fuera de las células y (tras una conversión breve y reversible a bicarbonato por los eritrocitos) es rápidamente exhalada a través del sistema respiratorio. El exceso de H_2O se excreta a través de los riñones. Sin embargo, otras moléculas son tóxicas, por lo que se han diseñado mecanismos complejos para llevar a cabo su eliminación. El ciclo de la

urea (que se describe en el Capítulo 15), que utilizan muchos animales para eliminar el NH_3, transforma esta sustancia muy dañina en urea, una molécula menos tóxica.

Las células contienen también una gran variedad de moléculas orgánicas complejas que deben eliminarse. Las células vegetales resuelven este problema transportando estas moléculas a una vacuola, donde se degradan o se almacenan. Sin embargo, los animales deben utilizar mecanismos de eliminación que dependen de la hidrosolubilidad (p. ej., la formación de orina por el riñón). Las sustancias hidrófobas como las hormonas esteroideas, que no pueden degradarse a moléculas más sencillas, se convierten durante una serie de reacciones en derivados hidrosolubles. Este mecanismo también se utiliza para solubilizar algunas moléculas orgánicas como los fármacos y los contaminantes ambientales.

CONCEPTOS CLAVE 1.7

Los procesos vivos tienen lugar en una complejidad muy ordenada que se mantiene por un aporte constante de energía.

1.4. VISIÓN GENERAL DEL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

La codificación y la replicación de la información genética son algunos de los temas más importantes de la bioquímica, y su estudio comporta muchos de los conceptos presentados en este capítulo: vida, biomoléculas, reacciones químicas, energéticas. En esta sección final del primer capítulo presentamos una breve visión general de los aspectos genéticos de la bioquímica (que también se conocen como biología molecular). El material de esta visión general ayudará a situar en perspectiva el material de los Capítulos 2 a 16. El flujo de la información genética es el tema de los tres últimos capítulos del libro.

Los medios de reproducir la información genética se resumen en el «dogma central» de la biología molecular (Fig. 1-21). De acuerdo con este principio, la información codificada en las secuencias químicas de los genes se utiliza para dirigir el montaje de los aminoácidos en los polipéptidos. Una característica esencial que permite el flujo de información genética es la capacidad de las bases de los nucleótidos para producir apareamientos específicos. Como se indica en el diagrama esquemático de la Figura 1.22, existen dos fases en la transferencia de la información genética: transcripción y traducción. Durante la **transcripción**, las enzimas denominadas RNA polimerasas, junto con otras proteínas, copian o *transcriben* las instrucciones codificadas en los genes en las secuencias de bases de las moléculas de RNA. Éstas se sintetizan mediante la formación de enlaces fosfodiéster entre ribonucleóti-

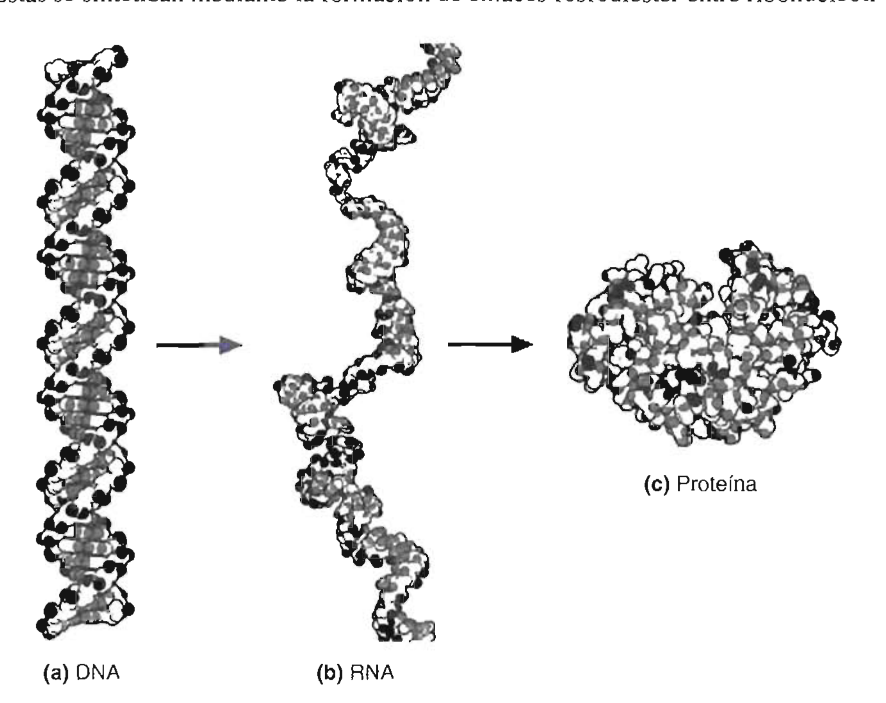
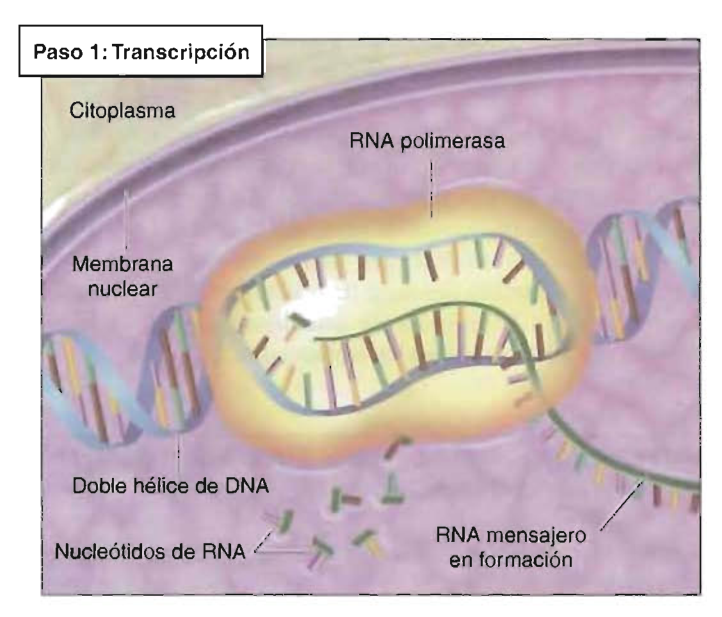


FIGURA 1-21
El dogma central
En la mayor parte de las circunstancias la información genética fluye desde el DNA (a) al RNA (b) y a la proteína (c). El DNA almacena la información que dirige su propia síntesis y la de las moléculas de RNA que participan en la síntesis de proteínas. Una excepción importante del dogma central es la capacidad de un grupo pequeño de virus, denominados retrovirus, que sintetizan DNA utilizando un RNA molde.



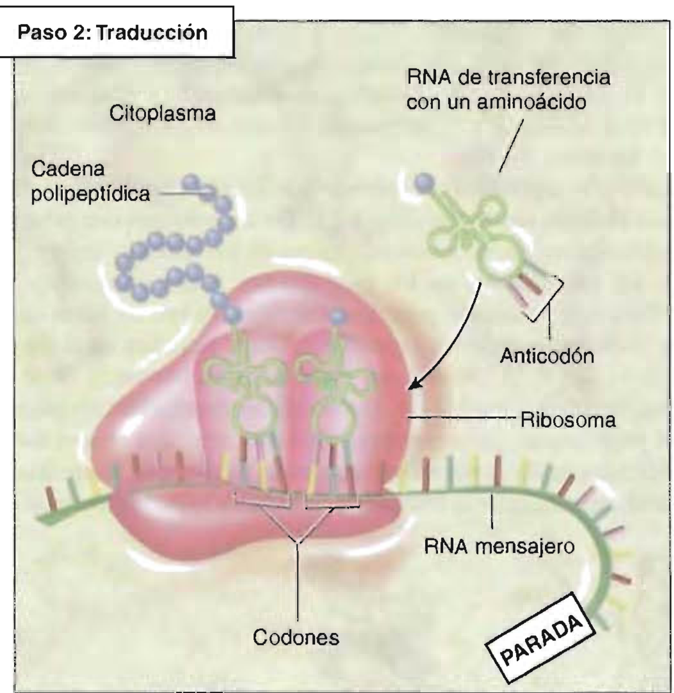


FIGURA 1-22

Visión general del flujo de la información genética

La información genética en el DNA se convierte en la secuencia lineal de aminoácidos de los polipéptidos en un proceso en dos fases. Durante la *transcripción*, se sintetizan las moléculas de RNA a partir de una cadena de DNA mediante apareamiento complementario de bases en el DNA y en las moléculas de ribonucleótidos trifosfato libres. Durante la segunda fase, que se denomina *traducción*, las moléculas de RNA se unen a los ribosomas que están formados por rRNA y proteínas ribosómicas. Los complejos RNA de transferencia aminoacilo sitúan su carga de aminoácido en el lugar catalítico dentro del ribosoma en un proceso con apareamiento de bases complementarias entre los codones del mRNA y los anticodones de los tRNA. Una vez que se ha situado correctamente el aminoácido dentro del lugar catalítico, se forma un enlace peptídico. Tras moverse la molécula de mRNA con relación al ribosoma, entra un codón nuevo en el lugar catalítico del ribosoma y se aparean las bases con el anticodón adecuado en otro complejo aminoacil-tRNA. Tras la entrada de un codón de parada del mRNA en el lugar catalítico, el polipéptido recién sintetizado se libera del ribosoma.

dos adyacentes con apareamiento de bases. La incorporación de los ribonucleótidos en el RNA puede resumirse de la forma siguiente:

$$\text{Ribonucleótido trifosfato} + \text{RNA}_n \rightarrow \text{RNA}_{n+1} + \text{PP}_i$$

en donde RNA_{n+1} es el RNA que ha crecido de una unidad de ribonucleótido a partir del RNA_n, y PP_i es pirofosfato ($HP_2O_7^{3-}$). Esta reacción está catalizada por la enzima RNA polimerasa. La energía que impulsa esta reacción se genera en la rotura de los enlaces fosfoanhídrido de los nucleótidos y la consecuente hidrólisis del pirofosfato. Con pocas excepciones, el único fin de las moléculas de RNA es la síntesis de proteínas.

Durante la **traducción**, el RNA mensajero (mRNA) se une a los ribosomas, donde su código de bases de nucleótidos se descodifica en la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos. Los ribosomas, que se encuentran libres en el citoplasma o en el retículo endoplásmico rugoso (un orgánulo del interior de las células), están formados por RNA ribosómico (rRNA) y varias proteínas.

MÉTODOS BIOQUÍMICOS 1.1. Introducción

¡Vivimos tiempos apasionantes para los bioquímicos! El conocimiento del que se dispone en la actualidad con relación al funcionamiento interno de los seres vivos está proporcionando a los científicos oportunidades sin precedente para resolver los problemas que durante mucho tiempo han afligido al ser humano. Nuestro mayor conocimiento sobre los procesos vivos se basa en los conceptos modernos que han sido posibles por los esfuerzos investigadores de los bioquímicos a lo largo del siglo veinte. Esta empresa notablemente eficaz es en gran medida el resultado de las brechas intelectual y tecnológica que descansan sobre una premisa filosófica denominada **reduccionismo**. De acuerdo con los reduccionistas, un fenómeno complejo, como la vida, puede, en última instancia, entenderse analizando sus componentes más simples. Poniendo a punto y utilizando técnicas que explotan las propiedades físicas y químicas de las biomoléculas componentes, los bioquímicos han dado una visión coherente de los principios organizativos de los procesos vitales. Entre los ejemplos de las propiedades de las biomoléculas que han demostrado ser útiles están el tamaño, la carga eléctrica neta, la solubilidad, la capacidad para moverse en un campo eléctrico y la capacidad de absorber o reflejar la radiación electromagnética.

Al avanzar la investigación en las ciencias biológicas, se ha hecho cada vez más evidente que la bioquímica es una ciencia multidisciplinaria. Por ejemplo, muchas de las técnicas que utilizan los bioquímicos, como la difracción de rayos X, la microscopía electrónica y el marcaje con isótopos radiactivos, empleadas en la investigación de la estructura de las macromoléculas, la estructura celular y las rutas metabólicas, respectivamente, fueron puestas a punto por físicos. Además, el conocimiento alcanzado en otras disciplinas afines, como la biología celular y la genética, se ha entrelazado tanto con la bioquímica que gradualmente se han erosionado las barreras intelectuales dentro de las propias ciencias biológicas. La explosión reciente de la información biológica creada por las técnicas de DNA recombinante, puestas a punto por los biólogos moleculares, también han generado problemas nuevos no previstos. La Biología molecular, la ciencia que utiliza las técnicas bioquímicas para investigar los aspectos moleculares de la genética, ha proporcionado cantidades masivas de información sobre las estructuras de los genes y las proteínas. El reto con el que se enfrentan en la actualidad los científicos es diseñar los medios para utilizar esta información e identificar y definir problemas resolubles con los que se enfrenta el ser humano, como mejorar la nutrición de una población, siempre en aumento, y desarrollar tratamientos más eficaces frente a las enfermedades. Para ayudarlos en este trabajo, muchos científicos están utilizando actualmente los servicios de otros científicos especializados en ordenadores y matemáticos. Como respuesta también a estos temas, muchas universidades y agencias federales han formado equipos multidisciplinarios de científicos. En este planteamiento relativamente nuevo, los grupos de investigación que abordan problemas previamente intratables cuentan con especialistas tan diversos como bioquímicos, biofísicos y otros científicos, junto con ingenieros y especialistas en ordenadores. El objetivo de estos esfuerzos es analizar las enormes cantidades de información de la estructura de genes y proteínas para profundizar en nuestro conocimiento sobre los seres vivos.

Los principios básicos de la investigación bioquímica son una parte importante de la educación bioquímica, ya que proporcionan un conocimiento más profundo de la generación del conocimiento científico. A lo largo de este libro se da una introducción a las características básicas de las técnicas bioquímicas más valiosas en los recuadros denominados *Métodos Bioquímicos*. Algunas de estas técnicas poseen un interés histórico importante, mientras que otras se encuentran entre los métodos más actuales utilizados por los científicos. El enfoque de cada presentación se centra en la forma de adquirir los conocimientos útiles en los procesos vivos explotando las propiedades físicas y químicas de las biomoléculas.

La traducción comienza al unirse cada ribosoma a una molécula de mRNA y pasar a convertir su secuencia de bases en un polímero de aminoácidos ligados por enlaces peptídicos. Cada aminoácido está especificado por una palabra codificada, denominada **codón**, que consta de tres bases secuenciales. La transferencia real de información se produce cuando el codón del mRNA interacciona y forma apareamientos de bases complementarias con una secuencia de tres bases en una molécula de RNA de transferencia (tRNA) denominada **anticodón**.

Cuando se produce un apareamiento de bases codón-anticodón, el aminoácido unido al tRNA se coloca correctamente dentro del ribosoma para la formación del enlace peptídico. Al formarse cada enlace peptídico, se libera de su tRNA el aminoácido recién incorporado y el mRNA se mueve con relación al ribosoma de forma que en el lugar catalítico entra un nuevo codón. El último proceso se denomina **translocación**. La traducción continúa de codón en codón hasta que se alcanza una secuencia de bases especial denominada codón de terminación o de parada. Entonces se libera el polipéptido del ribosoma y se plega en su conformación biológicamente activa. Dependiendo del tipo de polipéptido, puede entonces unirse a otros polipéptidos plegados para formar complejos más grandes.

Expresión génica es un término que se utiliza para describir los mecanismos por medio de los cuales los seres vivos regulan el flujo de información genética. Los genes se activan o desactivan de forma que las células pueden conservar recursos y responder adecuadamente a las variaciones ambientales o del desarrollo. Por ejemplo, muchas bacterias producen sólo las enzimas que degradan un número escaso de moléculas cuando se dispone realmente del nutriente. En los organismos multicelulares, los patrones complejos programados de la expresión génica son responsables de las diversas características de las células diferenciadas.

CONCEPTOS CLAVE 1.8

La información genética codificada en la estructura de los ácidos nucleicos se utiliza para dirigir el montaje de los aminoácidos en los polipéptidos. En un proceso denominado expresión génica, los genes se activan o desactivan de forma que las células pueden conservar los recursos y responder a los cambios ambientales y del desarrollo.

RESUMEN

1. La Bioquímica se puede definir como el estudio de las bases moleculares de la vida. Los bioquímicos han contribuido a los siguientes conocimientos sobre la vida: (1) la vida es compleja y dinámica, (2) la vida está organizada y automantenida, (3) la vida es celular, (4) la vida se basa en la información, y (5) la vida se adapta y evoluciona.
2. Las pruebas moleculares con respecto a las relaciones evolutivas de las especies vivas son lo suficientemente convincentes, por lo que muchos científicos clasifican en la actualidad a los seres vivos en tres dominios: bacterias, arqueas y eucariotas.
3. Todo lo vivo está formado por células procariotas o células eucariotas. Las procariotas, que comprenden las bacterias y las arqueas, carecen de un orgánulo rodeado por una membrana denominado núcleo. Las eucariotas comprenden todas las especies restantes. Estas células contienen un núcleo y estructuras complejas que no se observan en las procariotas.
4. Muchos organismos eucariotas son multicelulares. Los organismos multicelulares poseen varias ventajas sobre los unicelulares. Entre ellas se encuentran (1) la provisión de un ambiente relativamente estable para la mayoría de las células del organismo, (2) la capacidad de mayor complejidad en la forma del organismo y su función, y (3) la capacidad para explotar los recursos ambientales más eficazmente de lo que pueden hacerlo los organismos unicelulares individuales.
5. Las células animales y vegetales contienen miles de moléculas. El agua constituye entre el 50 y el 90 % del contenido en peso de una célula, y los iones como el Na^+, K^+ y Ca^{2+} pueden representar otro 1 %. Casi todas las otras clases de biomoléculas son orgánicas. Las propiedades del elemento carbono son responsables de la enorme variedad de moléculas orgánicas. Las propiedades químicas de las moléculas orgánicas están determinadas por las disposiciones específicas de átomos, que se denominan grupos funcionales. Se producen diferentes familias de moléculas orgánicas cuando los átomos de hidrógeno en las moléculas hidrocarbonadas se sustituyen por grupos funcionales. La mayoría de las biomoléculas contiene más de un grupo funcional.
6. Muchas de las biomoléculas que se encuentran en las células son relativamente pequeñas, con pesos moleculares inferiores a 1000 D. Las células contienen cuatro familias de moléculas pequeñas: aminoácidos, azúcares, ácidos grasos y nucleótidos. Los miembros de cada grupo desempeñan varias funciones: (1) se utilizan en la síntesis de moléculas más grandes, (2) algunas moléculas pequeñas poseen funciones biológicas especiales, y (3) muchas moléculas pequeñas son componentes de rutas complejas de reacciones.
7. Todos los procesos vitales constan de reacciones químicas catalizadas por enzimas. Las reacciones de una célula, que en su conjunto se conocen como metabolismo, dan lugar a una actividad muy coordinada y finalista. Entre las clases de reacciones más habituales en los procesos bioquímicos están: (1) sustitución nucleófila, (2) eliminación, (3) adición, (4) isomerización, y (5) oxidación-reducción.
8. Las células son en sí mismas inestables. Sólo un flujo constante de energía impide que se desorganicen. Uno de los medios por los cuales las células obtienen energía es la oxidación de las biomoléculas o de determinados minerales.
9. El metabolismo es la suma de todas las reacciones catalizadas por enzimas de un ser vivo. Muchas de estas reacciones están organizadas en rutas. Existen dos tipos principales de rutas bioquímicas: anabólicas y catabólicas.
10. La estructura compleja de las células requiere un grado elevado de orden interno, que se consigue mediante cuatro medios primarios: (1) síntesis de biomoléculas, (2) transporte de iones y moléculas a través de las membranas, (3) producción de movimiento, y (4) eliminación de los productos de desecho metabólicos y otras sustancias tóxicas.
11. En el flujo de información genética la forma y las propiedades químicas de las bases en los residuos de nucleótidos del DNA dirigen el montaje de los polipéptidos a partir de los aminoácidos. Existen dos fase de la expresión génica: transcripción y traducción. En la transcripción, las RNA polimerasas utilizan la capacidad de las bases de los nucleótidos para formar apareamientos y copiar la secuencia de bases de los genes para sintetizar moléculas de RNA. Durante la traducción, los ribosomas utilizan la información de la secuencia de bases del mRNA para construir los polipéptidos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Goodsell, D.S., *The Machinery of Life*, Springer-Verlag, New York, 1993.

Lewis, R., *Life*, 3.ª ed., WCB/McGraw-Hill, Dubuque, Iowa, 1998.

Mader, S., *Biology*, 6.ª ed., WCB/McGraw-Hill, Dubuque, Iowa, 1998.

Raven, P.H. and Johnson, G.B., *Biology*, 5.ª ed., McGraw-Hill, Dubuque, Iowa, 1999.

Tudge, C., *The Variety of Life: A Survey and a Celebration of All the Creatures that Have Ever Lived*, Oxford University Press, New York, 2000.

PALABRAS CLAVE

ácido graso, *13*
ácido nucleico, *14*
agente oxidante, *19*
agente reductor, *19*
aminoácido, *11*
anticodón, *25*
arqueas, *5*
autótrofo, *20*
azúcar, *12*
bacterias, *5*
biomolécula, *2*
biorreparación, *6*
célula eucariota, *4*
célula procariota, *4*
codón, *25*
electrófilo, *17*
eliminación, *18*
energía, *20*
enlace peptídico, *11*
enzima, *2*
eucariota, *5*
expresión génica, *25*
extremófilo, *6*
extremozima, *6*
fotoautótrofo, *20*
fotoheterótrofo, *20*
gen, *3*
grupo de salida, *17*
grupo funcional, *9*
heterótrofo, *20*
hidratación, *19*
hidrocarburo, *9*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Describa los conocimientos que la investigación bioquímica ha proporcionado sobre la vida y los procesos vivos.
2. Existen tres dominios en los seres vivos. ¿Cuáles son? ¿Qué características singulares poseen los organismos de cada dominio?
3. Describa las principales diferencias entre las células procariotas y las eucariotas.
4. Identifique los grupos funcionales de las moléculas siguientes:

   a. $CH_3C(=O)—H$

   b. $HO—C(=O)—CH_2CH_2CH(NH_2)—C(=O)—OH$

   c. $CH_3CH_2CH(SH)CH_3$

   d. $CH_3C(=O)—O—CH_3$

   e. $CH_3(H)C=C(H)CH_2CH_3$

   f. $CH_3C(=O)—N(H)—CH_2CH_3$

   g. $CH_3C(=O)CH_3$

   h. $CH_2OH—CH(OH)—CH_2OH$

5. Nombre las cuatro clases de biomoléculas pequeñas. ¿En qué biomoléculas más grandes se encuentran?
6. Defina los términos siguientes:
   a. bioquímica
   b. oxidación
   c. reducción
   d. transporte activo
   e. grupo de salida
   f. eliminación
   g. isomerización
   h. sustitución nucleófila
   i. agente reductor
   j. agente oxidante
7. Dé dos funciones para cada una de las moléculas siguientes:
   a. ácidos grasos
   b. azúcares
   c. nucleótidos
8. ¿Cuáles son las funciones del DNA y del RNA?
9. ¿Cómo obtienen las células energía de los enlaces químicos?
10. ¿Cómo eliminan las plantas los productos de desecho?
11. ¿Cuál es la diferencia entre un hidrocarburo insaturado y uno saturado?
12. ¿Qué ventajas tienen los organismos multicelulares sobre los organismos unicelulares?
13. Asigne cada uno de los compuestos siguientes a una de las clases principales de biomoléculas:

   a. (indol)—$CH_2—CH(NH_2)—C(=O)—OH$

   b. (anillo de piranosa con CH_2OH, HO, OH, OH, OH)

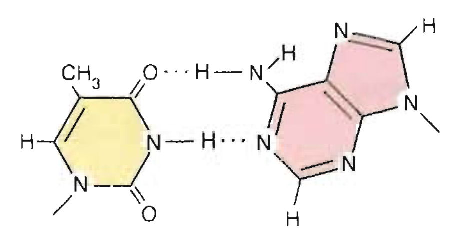
   c. $CH_3—(CH_2)_9—CH_2—C(=O)—OH$

d.

14. Defina los términos siguientes:
    a. metabolismo
    b. nucleófilo
    c. reduccionismo
    d. electrófilo
    e. energía
15. ¿Qué son los orgánulos? En general ¿qué ventajas les proporcionan a los eucariotas?
16. ¿Cuáles son las funciones primarias del metabolismo?
17. Dé un ejemplo de cada uno de los procesos de reacción siguientes:
    a. sustitución nucleófila
    b. eliminación
    c. oxidación-reducción
    d. adición
18. Dé una lista de varios iones importantes que se encuentran en los seres vivos.
19. ¿Cuáles son las principales clases de reacciones químicas que se producen en los seres vivos?
20. Describa varias funciones de los polipéptidos.
21. Los hidratos de carbono se consideran como fuentes de energía metabólica. ¿Cuáles son otras dos funciones fundamentales que desempeñan los hidratos de carbono en los seres vivos?
22. ¿Cuáles son las biomoléculas más grandes?. ¿Qué funciones desempeñan en los seres vivos?
23. Los nucleótidos desempeñan varias funciones además de ser los componentes del DNA y del RNA. Dé un ejemplo.
24. ¿Cómo se mantiene el orden dentro de las células vivas?
25. Nombre varios productos de desecho que producen las células animales.
26. ¿Qué son las propiedades emergentes? Dé varios ejemplos.
27. Compare las funciones del mRNA, rRNA y tRNA en la síntesis de proteínas.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Se ha considerado a las reacciones bioquímicas como versiones exóticas de las reacciones orgánicas. ¿Puede sugerir algunos problemas con esta suposición?
2. Con frecuencia se supone que los procesos bioquímicos en los procariotas y los eucariotas son básicamente semejantes. ¿Es una suposición adecuada?
3. La mayor parte de lo que se conoce sobre los procesos bioquímicos es el resultado directo de la investigación con organismos procariotas. Sin embargo, la mayoría de los organismos son eucariotas. ¿Puede sugerir algunas razones por las que se han realizado tantos esfuerzos utilizando procariotas? ¿Por qué no se utilizan directamente los eucariotas?
4. Los enlaces sencillos carbono-nitrógeno son de rotación libre; sin embargo, los enlaces amida carbono-nitrógeno son mucho más rígidos. ¿Por qué? ¿Qué efecto tiene esta propiedad de los enlaces amida sobre las formas que pueden asumir las proteínas?
5. ¿Por qué son los ácidos grasos la principal reserva a largo plazo del organismo?
6. Cuando se disuelve en agua una sustancia como el cloruro sódico, los iones que forma quedan totalmente rodeados por moléculas de agua que forman estructuras denominadas esferas de hidratación. Cuando se mezcla la sal sódica de un ácido graso con agua, el grupo carboxilato de la molécula se hidrata pero la porción hidrocarbonada hidrófoba de la molécula está poco hidratada, si es que lo está algo. Las cadenas hidrocarbonadas de numerosos ácidos grasos tienden a agruparse juntas en estructuras esféricas denominadas micelas o, si se encuentran presentes cantidades grandes, en láminas bicapa. Utilizando un círculo para representar al grupo carboxilato y una línea ondulada unida para representar la cadena hidrocarbonada de un ácido graso, dibuje una micela y una bicapa.
7. Las bases de dos cadenas complementarias de DNA se aparean una con la otra debido a los enlaces de hidrógeno; es decir,



Par de bases timina-adenina

Se ha aislado un nuevo nucleótido que contiene la purina siguiente:

2-amino-6-metoxipurina

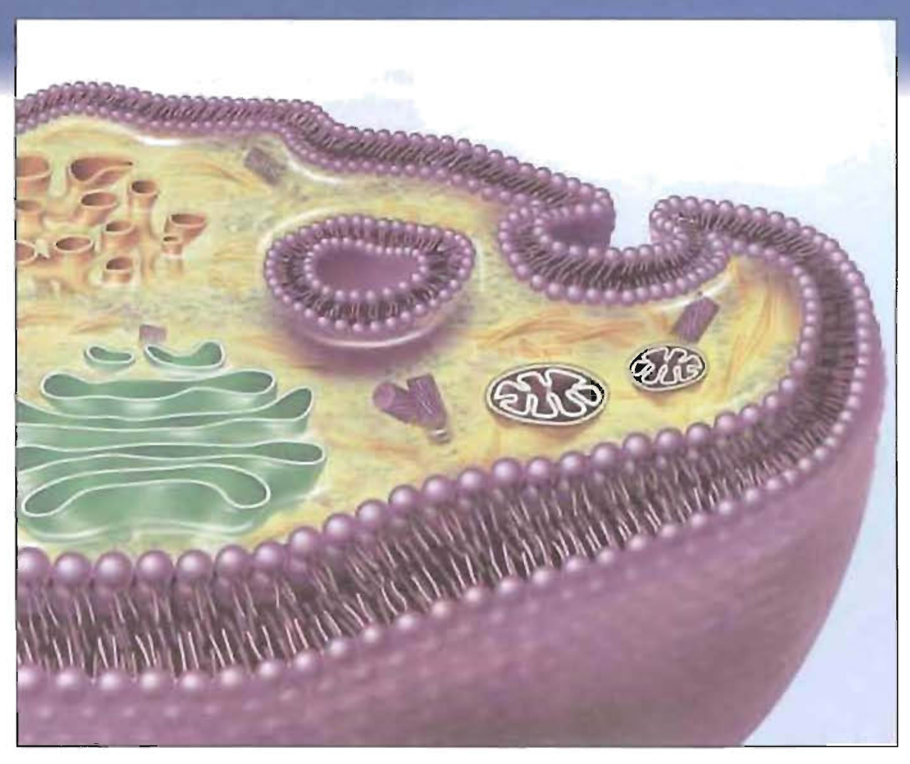
¿Cuál de las purinas o pirimidinas normales (adenina, guanina, citosina o timina) esperaría que se apareara con ella?

8. En la mayoría de los seres humanos sanos, una alimentación con abundante colesterol da lugar a la inhibición de la síntesis de colesterol en las células del organismo. ¿Qué propiedad de los seres vivos explica este fenómeno?
9. Describa los posibles beneficios de la producción de biomoléculas como la insulina mediante biotecnología.

CAPÍTULO DOS

Las células vivas

SUMARIO



Membranas de las células vivas. Las membranas son un rasgo esencial de las células vivas. La mayoría de los procesos bioquimicos se produce dentro o en las cercanias de estas estructuras supramoleculares dinámicas y complejas.

Las células son las unidades estructurales de los seres vivos. Una característica notable de las células es su diversidad. Por ejemplo, el cuerpo humano contiene unas 200 clases de células. Esta importante variedad refleja la diversidad de funciones que pueden realizar las células. Sin embargo, con independencia de su forma, tamaño o especie, las células son asombrosamente semejantes. Todas están rodeadas por una membrana que las separa de su entorno y todas están formadas por las mismas clases de moléculas.

Las células son las unidades fundamentales de la vida. Son entidades funcionales, cada una de las cuales está rodeada por una membrana semipermeable, que varía en su composición y función, tanto alrededor de una superficie celular como entre las diferentes clases celulares. Existen dos formas básicas de células: procariotas y eucariotas. Las procariotas se caracterizan por su pequeño tamaño y su estructura relativamente sencilla. Presumiblemente estas características, además de su rápida velocidad de reproducción y su diversidad bioquímica, las especies procariotas ocupan virtualmente todos los nichos ecológicos de la Biosfera. De forma diferente, la característica más llamativa de las eucariotas es su estructura interna extraordinariamente compleja. Debido a que las eucariotas llevan a cabo sus funciones metabólicas en diversos orgánulos rodeados por una membrana, tienen un metabolismo intracelular más sofisticado. Los diversos mecanismos reguladores metabólicos que son posibles gracias a esta complejidad favorecen dos características de estilo de vida diferentes que requieren los organismos multicelulares: la especialización celular y la cooperación intercelular. Como consecuencia de ello, no es sorprendente que la mayoría de los eucariotas sean organismos multicelulares formados por numerosas clases de células especializadas.

A pesar de su inmensa diversidad de tamaños, formas y capacidades, las células también son notablemente semejantes. En realidad, todas las células actuales se cree que han evolucionado a partir de células primordiales hace 3000 millones de años (véase el Recuadro de interés especial 2.2). Entre las características comunes de las células procariotas y eucariotas se encuentran su composición química semejante y la utilización universal del DNA como material genético. El objetivo de este capítulo es dar una visión general de la estructura celular. Esta revisión es un ejercicio valioso ya que las reacciones bioquímicas no se producen de forma aislada. Está cada vez más claro que nuestra comprensión de los procesos vivos queda incompleta sin el conocimiento de su contexto celular. Tras una breve consideración de algunos temas básicos de la estructura y la función celular, se describirán las características estructurales esenciales de las células procariotas y eucariotas con relación a sus funciones bioquímicas.

2.1. TEMAS BÁSICOS

Dentro de todas las células hay centenares de millones de biomoléculas densamente empaquetadas que realizan a un ritmo frenético las miles de tareas que en su conjunto constituyen la vida. La aplicación de las técnicas bioquímicas a la investigación de los procesos vivos ha proporcionado conocimientos significativos sobre las singulares propiedades estructurales y químicas de las biomoléculas, que posibilitan sus propiedades funcionales. Como introducción a la estructura y función celular vale una revisión de los siguientes temas bioquímicos:

1. El agua, el disolvente biológico.
2. Las membranas biológicas.
3. Automontaje.
4. Máquinas moleculares.

Agua

El agua domina los procesos vivos. Sus propiedades físicas y químicas (que se describen en el Capítulo 3), que son consecuencia de su estructura polar singular y su concentración elevada, lo hacen un componente indispensable de los seres vivos. Entre las propiedades más importantes del agua está su capacidad para disolver un gran número de sustancias. De hecho, el comportamiento de las demás moléculas de los seres vivos se define por la naturaleza de sus interacciones con el agua. Las moléculas **hidrófilas**, es decir, aquellas que poseen cargas positivas o negativas o contienen un número relativamente grande de átomos electronegativos de oxígeno o nitrógeno, se disuelven fácilmente en el agua. Entre los ejemplos de moléculas hidrófilas senci-

llas se encuentran las sales, como el cloruro sódico, y los azúcares, como la glucosa. Por el contrario, las moléculas **hidrófobas**, aquellas que poseen pocos átomos electronegativos, no se disuelven en agua, sino que el agua las excluye y quedan confinadas en las regiones no acuosas, como las gotitas de aceite que se forman cuando se mezclan el aceite y el agua. El comportamiento de los ácidos grasos, por ejemplo, está dominado por sus largas cadenas hidrocarbonadas. Cuando se mezclan con agua forman espontáneamente agregados, de forma que se hace mínimo el contacto entre las cadenas hidrocarbonadas y las moléculas de agua (Fig. 2-1). Entre estos dos extremos hay un grupo enorme de biomoléculas grandes y pequeñas, cada una de las cuales posee su propio patrón de grupos funcionales hidrófilos e hidrófobos. Los seres vivos explotan la estructura molecular distintiva de cada una de estas biomoléculas. Los fosfolípidos y las proteínas son ejemplos excelentes. En un ambiente acuoso, las moléculas de fosfolípido, el principal componente estructural de las membranas, dan lugar espontáneamente a una bicapa análoga a una membrana. De igual manera, la proporción y situación precisa de las cadenas laterales hidrófilas e hidrófobas de cada polipéptido determina en gran medida sus propiedades estructurales y funcionales. El plegamiento de cada polipéptido recién sintetizado en su forma tridimensional biológicamente activa es un proceso que está impulsado en gran parte por la acción del agua, que fuerza a las porciones hidrófobas de la cadena polipeptídica hacia las regiones interiores de la proteína plegada.

CONCEPTOS CLAVE 2.1

Las propiedades físicas y químicas del agua lo hacen un componente indispensable de los seres vivos. Las moléculas hidrófilas se disuelven en agua, mientras que las moléculas hidrófobas no se disuelven en agua.

Membranas biológicas

Las membranas biológicas son estructuras laminares, finas, flexibles y relativamente estables que rodean a todas las células y a los orgánulos. Estas membranas pueden considerarse como polímeros bidimensionales no covalentes que crean superficies químicas reactivas y que poseen funciones de transporte singulares entre los compartimientos extracelular e intracelular. También son componentes celulares versátiles y dinámicos que están integrados de forma compleja en todos los procesos vivos. Entre las numerosas funciones fundamentales que se han asignado a las membranas, la más básica es la de barrera física selectiva. Las membranas impiden la salida de moléculas e iones fuera de la célula o de los orgánulos hacia sus alrededores, y permiten la entrada oportuna de nutrientes y la eliminación de los productos de desecho. Además, las membranas poseen funciones significativas en el procesamiento de la información y la generación de energía.

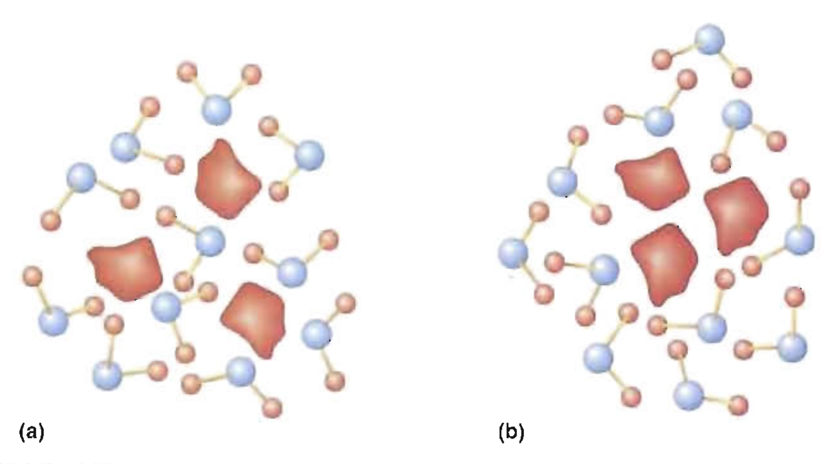


FIGURA 2-1

Interacciones hidrófobas entre el agua y las sustancias apolares

Al mezclar las sustancias apolares (p. ej., los hidrocarburos) con agua (a), se fusionan en gotitas (b). Las interacciones hidrófobas entre las moléculas apolares sólo se producen cuando la cohesividad del agua y otras moléculas polares obliga a acercarse a las moléculas o regiones de moléculas apolares.

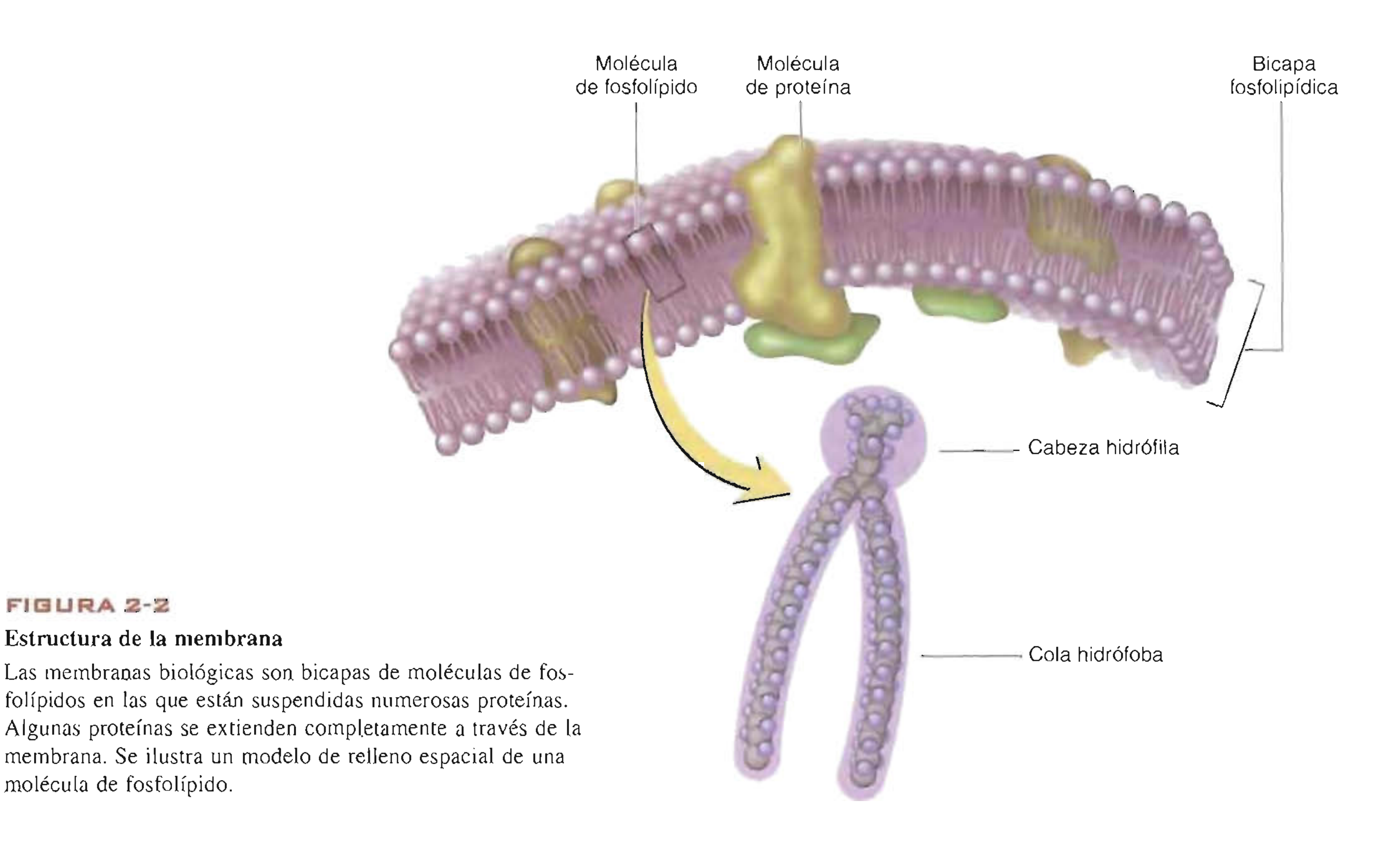


FIGURA 2-2
Estructura de la membrana
Las membranas biológicas son bicapas de moléculas de fosfolípidos en las que están suspendidas numerosas proteínas. Algunas proteínas se extienden completamente a través de la membrana. Se ilustra un modelo de relleno espacial de una molécula de fosfolípido.

La mayoría de las membranas biológicas posee la misma estructura básica: una bicapa lipídica formada por fosfolípidos y otras moléculas lipídicas en la que están insertadas o unidas indirectamente diversas proteínas (Fig. 2-2). Los fosfolípidos tienen dos características que los hacen idealmente adecuados para su función estructural: un grupo cargado hidrófilo (denominado «grupo de cabeza») y un grupo hidrófobo, compuesto por dos cadenas de ácido graso (denominadas frecuentemente «colas» hidrocarbonadas). Las proteínas de la membrana confieren capaci dades especiales a las membranas, como son el transporte molecular e iónico, la generación de energía y la transducción de señales (respuesta celular a los estímulos externos). La cantidad y la clase de proteínas de una membrana celular específica dependen del ambiente en el que actúe la célula.

CONCEPTOS CLAVE 2.2

Cada membrana biológica está formada por una bicapa lipídica en la que están insertadas o unidas indirectamente las proteínas. Las membranas biológicas están completamente integradas en todos los procesos celulares.

Automontaje

Como se describe en el Capítulo 1, los seres vivos son sistemas jerárquicos. Recuérdese que las moléculas poliméricas, como los ácidos nucleicos y las proteínas, están formadas por monómeros. Tras su síntesis, los polímeros se agregan (quizá con moléculas más pequeñas) para formar montajes heterogéneos específicos de nivel superior, que se denominan *estructuras supramoleculares*. Entre los ejemplos destacados se encuentran los ribosomas (las unidades sintetizadoras de proteínas que se han formado a partir de varias clases diferentes de proteínas y RNA), y los grandes complejos proteicos, como los sarcómeros en las células musculares o los proteasomas (un complejo proteico grande que degrada determinadas proteínas).

De acuerdo con el principio de automontaje, la mayoría de las moléculas que interaccionan para formar complejos supramoleculares estables y funcionales son capaces de hacerlo espontáneamente debido a que poseen de forma inherente la información estérica que se requiere. Poseen superficies de formas enrevesadas con estructuras complementarias, distribuciones de carga y/o regiones hidrófobas que permiten la formación de numerosas interacciones no covalentes relativamente débiles (Fig. 2-3). El automontaje de estas moléculas es el resultado de un equilibrio entre la tendencia de los grupos hidrófilos para interactuar con el agua y del agua

CONCEPTOS CLAVE 2.3

En los seres vivos, las moléculas de las estructuras supramoleculares se montan espontáneamente. Las biomoléculas son capaces de automontarse debido a la información estérica que poseen.

para excluir a los grupos hidrófobos de las regiones acuosas de la célula. En algunos casos el proceso de automontaje necesita asistencia. Por ejemplo, el plegamiento de algunas proteínas requiere la colaboración de chaperonas moleculares, moléculas proteicas que impiden las interacciones inadecuadas durante el proceso de plegamiento. El montaje de determinadas estructuras supramoleculares (p. ej., cromosomas y membranas) requiere una información ya existente, es decir, la creación de una nueva estructura sobre el molde de una estructura ya existente.

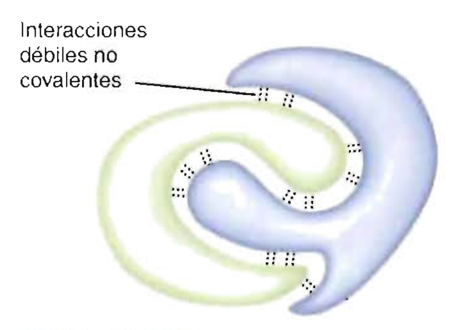


FIGURA 2-3
Autoensamblaje
La información que permite el automontaje de las biomoléculas consta de las formas complementarias y de las distribuciones de las cargas de las moléculas que interactúan. Para que se forme la estructura supramolecular se requiere un gran número de interacciones débiles . En este esquema, varias interacciones débiles no covalentes estabilizan la unión de dos moléculas que poseen formas complementarias.

Máquinas moleculares

Hace pocos años que los investigadores han reconocido que muchos de los complejos con varias subunidades que participan en los procesos celulares actúan como máquinas moleculares. Entre los ejemplos se encuentran los dispositivos de montaje como los ribosomas, que incorporan rápidamente y con exactitud los aminoácidos a los polipéptidos, y los sarcómeros, las unidades de contracción del músculo esquelético. Las máquinas pueden definirse como dispositivos mecánicos con partes móviles que realizan trabajo, el producto de la fuerza por la distancia. El funcionamiento óptimo de cada máquina asegura que precisamente la cantidad correcta de fuerza aplicada crea exactamente la cantidad adecuada y la dirección de movimiento requerida para realizar una tarea específica. Cuando las máquinas trabajan adecuadamente permiten la realización de tareas que, frecuentemente, serían imposibles sin ellas. Aunque las máquinas biológicas están formadas por proteínas relativamente frágiles que no pueden soportar las condiciones físicas asociadas con las máquinas fabricadas por el hombre (p. ej., calor y rozamiento), las dos comparten características importantes. Además de estar formadas por partes móviles, ambos tipos de dispositivos requieren mecanismos transductores de energía; es decir, ambos convierten la energía en movimiento dirigido. A pesar de la diversidad de clases de trabajo que realizan las máquinas biológicas, todas ellas comparten una característica clave: los cambios impulsados por la energía de las formas tridimensionales de las proteínas. Uno o varios de los componentes de las máquinas biológicas unen moléculas de nucleótidos como el ATP o el GTP. La unión de las moléculas de nucleótidos a estas subunidades proteicas, denominadas **proteínas motoras**, y la consiguiente liberación de energía que se produce cuando se hidroliza el nucleótido, originan un cambio preciso de la forma de la subunidad (Fig. 2-4). A continuación, esta ola de cambios se transmite a las subunidades cercanas en un proceso que se asemeja a la

CONCEPTOS CLAVE 2.4

Muchos complejos moleculares de los seres vivos actúan como máquinas moleculares; es decir, son dispositivos mecánicos con partes móviles que realizan trabajo.

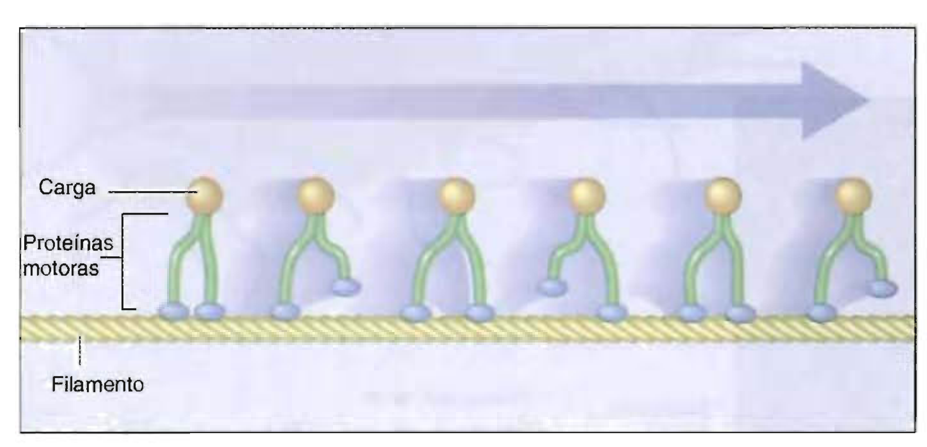


FIGURA 2-4
Máquinas biológicas
Las proteínas realizan trabajo cuando las subunidades proteicas motoras unen e hidrolizan nucleótidos como el ATP. La variación inducida por la energía de la forma de una subunidad proteica motora produce un cambio ordenado de las formas de las subunidades adyacentes. En este diagrama, un complejo de proteína motora mueve una carga unida (p. ej., una vesícula) al «caminar» a lo largo de un filamento del citoesqueleto.

caída de las fichas de dominó. Las máquinas bioquímicas son relativamente eficaces, ya que la hidrólisis de los nucleótidos es esencialmente irreversible; por lo tanto, los cambios funcionales que se producen en cada máquina sólo tienen lugar en una dirección.

2.2. ESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS PROCARIOTAS

Los procariotas son un grupo inmenso y heterogéneo en el que se encuentran las bacterias y las arqueas. El aspecto externo de la mayoría de los procariotas es semejante. Por ejemplo, las formas que se observan con mayor frecuencia entre los procariotas son las cilíndricas o de varilla (bacilos), las esféricas (cocos) y las enrolladas helicoidalmente (espirilos). Los procariotas se caracterizan también por su tamaño relativamente pequeño (una célula bacteriana con forma de varilla tiene un diámetro de 1 μm y una longitud de 2 μm), su capacidad para moverse (es decir, si tienen flagelos, apéndices en forma de látigos que los impulsan) y su retención de colorantes específicos. Dado que estas características son insuficientes para diferenciar a las miles de especies que se conocen en la actualidad, la mayoría se identifican por características más sutiles, entre las que se encuentran los requerimientos nutritivos, las fuentes de energía, la composición química y las capacidades bioquímicas. A pesar de su diversidad, la mayoría de los procariotas posee las características comunes siguientes: paredes celulares, una membrana plasmática, moléculas de DNA circular y ausencia de orgánulos internos rodeados por membranas. Dado que las bacterias son las mejor conocidas, las consideraciones siguientes se centrarán en sus características estructurales. En las Figuras 2-5 y 2-6 se detallan las características anatómicas de una célula bacteriana típica.

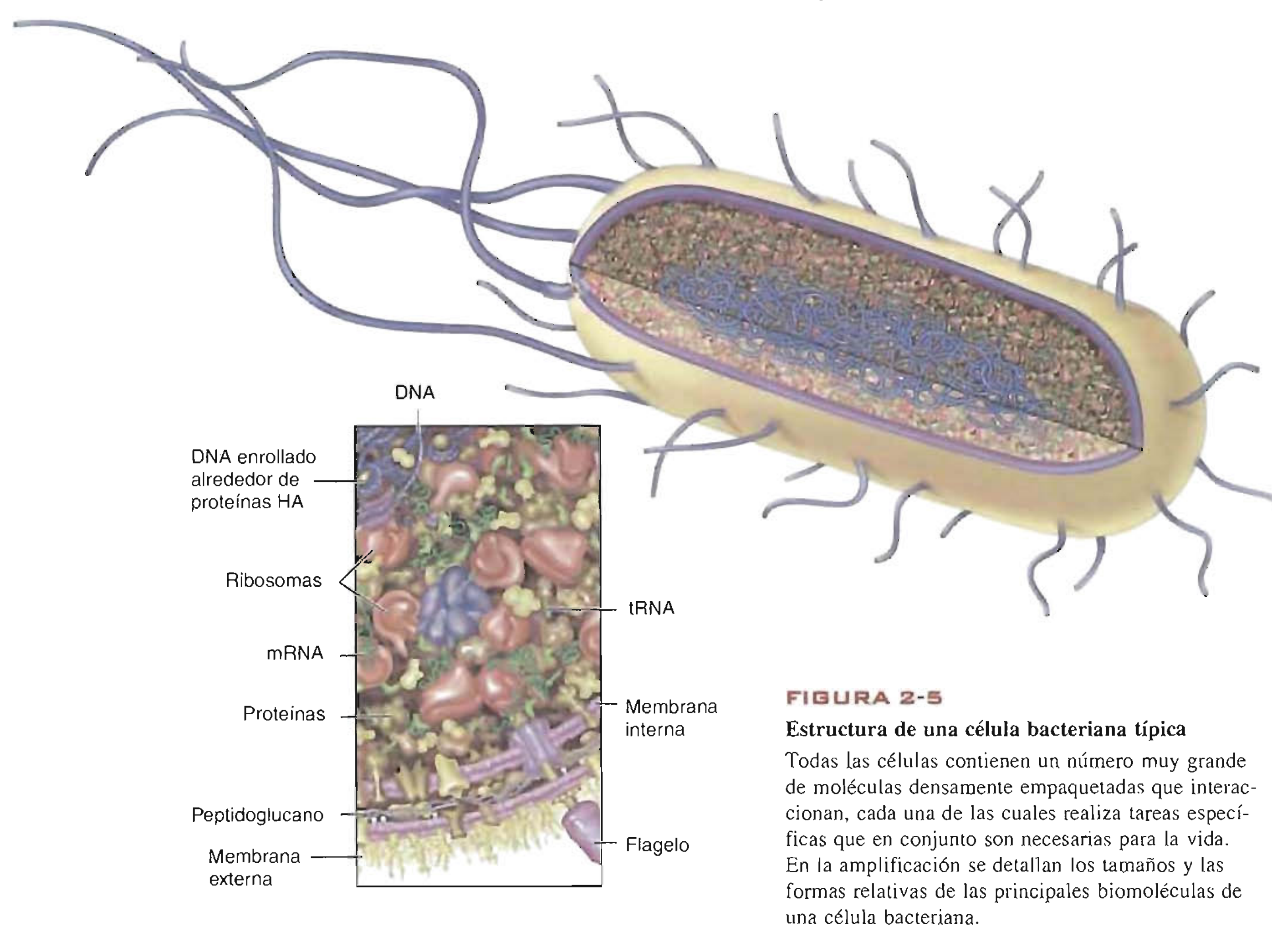


FIGURA 2-5

Estructura de una célula bacteriana típica

Todas las células contienen un número muy grande de moléculas densamente empaquetadas que interaccionan, cada una de las cuales realiza tareas específicas que en conjunto son necesarias para la vida. En la amplificación se detallan los tamaños y las formas relativas de las principales biomoléculas de una célula bacteriana.

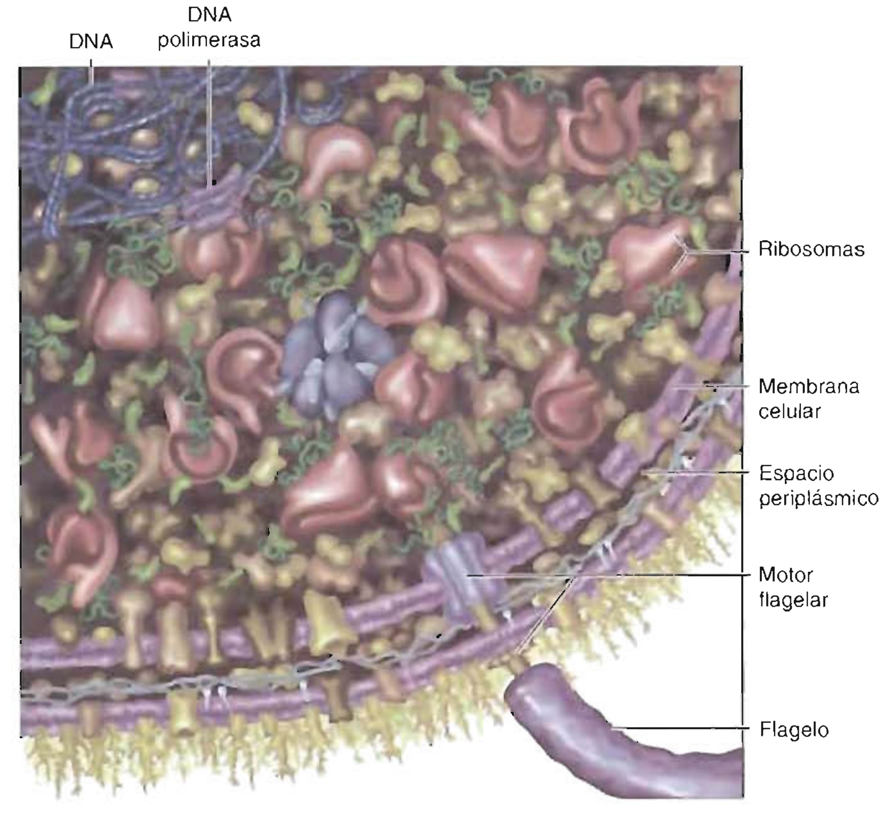


FIGURA 2-6

Célula bacteriana

Las células bacterianas no son las bolsas de protoplasma que se pensó en su día. Considerando que no tienen compartimientos con membranas, su estructura interna está sorprendentemente bien organizada. Obsérvese, por ejemplo, la separación espacial de la molécula de DNA superenrollada (parte superior izquierda) de otras biomoléculas (Véase también la Fig. 2-5).

Pared celular

La pared celular procariota (Fig. 2-7) es una estructura semirrígida compleja cuya finalidad principal es el sostén. Mantiene la forma del organismo y lo protege de los daños mecánicos. La resistencia de la pared celular se debe en gran parte a la presencia de polímeros complejos que contienen péptidos e hidratos de carbono. En las paredes celulares de muchas bacterias la red formada por estos polímeros se denomina *peptidoglucano*. Algunas bacterias segregan sustancias, como polisacáridos y proteínas, denominadas colectivamente *glucocáliz*, que se acumulan en el exterior de la célula. Dependiendo de la estructura y composición de este material, el glucocáliz puede denominarse *capa de limo* o *cápsula*. Las capas de limo son acumulaciones desorganizadas de material gelatinoso que sólo están unidas laxamente. De forma diferente, el material de las cápsulas está muy organizado y unido firmemente a la pared celular. Algunas especies bacterianas son especialmente patógenas (producen enfermedades) debido a que su cápsula las permite evitar la detección o el daño por el sistema inmunitario del hospedador, unirse a las células hospedadoras para facilitar la colonización, y segregar exotoxinas que producen daño a la célula hospedadora.

El grosor y la composición química de la pared celular y sus estructuras adyacentes determinan la avidez con la que la pared celular capta y/o retiene colorantes específicos. La mayoría de las células puede diferenciarse por su retención del colorante violeta cristal durante el procedimiento de tinción de Gram. Las que pueden retener el colorante se denominan *grampositivas*, y lo hacen debido a que sus paredes celulares tienen una capa gruesa de peptidoglucano. Por el contrario, las células

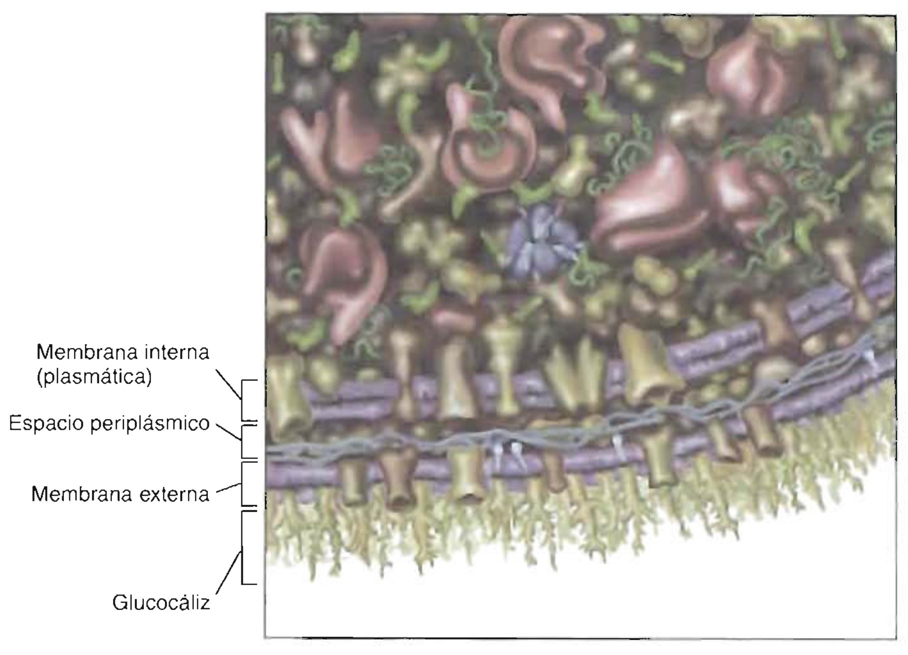


FIGURA 2-7

Pared celular procariota

La pared celular del organismo gramnegativo *Escherichia coli* es compleja. Como en muchas bacterias gramnegativas, la pared celular de *E. coli* posee un espacio periplásmico, una capa gelatinosa entre las membranas interna y externa. Frecuentemente contienen algunas moléculas de peptidoglucano.

gramnegativas poseen una capa fina de peptidoglucano. Con frecuencia, esta capa fina está rodeada por una bicapa lipídica fina exterior que tiene proteínas integradas y unidas a polisacáridos. Las paredes celulares de las arqueas son de composición bastante variable y algunas arqueas no contienen paredes celulares. Aunque las paredes celulares de las arqueas son también distintas de las de las bacterias, ya que, por ejemplo, carecen de determinados azúcares y aminoácidos que suelen encontrarse en los peptidoglucanos bacterianos, también pueden diferenciarse en grampositivas o gramnegativas. Una consecuencia de la composición diferente de la pared bacteriana de las arqueas es que ninguna es susceptible a la penicilina, un antibiótico que inhibe la síntesis de la pared celular de las bacterias grampositivas.

Membrana plasmática

Directamente dentro de la pared celular está la **membrana plasmática** (Fig. 2-8). Además de actuar como una barrera de permeabilidad selectiva, la membrana plasmática bacteriana posee proteínas receptoras que detectan los nutrientes y las toxinas de su entorno. También se encuentran aquí numerosas clases de proteínas transportadoras que participan en la captación de nutrientes y en la eliminación de los productos de desecho. Dependiendo de la especie de organismo, puede también haber proteínas que actúan en los procesos de transducción de energía como la **fotosíntesis** (la conversión de la energía luminosa en energía química) y la **respiración** (un proceso por el cual las moléculas combustibles se oxidan y sus electrones se utilizan para generar ATP).

La composición de las membranas de las arqueas es notablemente diferente de la de las bacterias y los eucariotas. En lugar de los ácidos grasos de cadena lineal ligados al glicerol a través de enlaces éster, que habitualmente se encuentran en los lípidos que componen la membrana, las cadenas hidrocarbonadas de las membranas de las arqueas están ligadas por enlaces éter. Además, los lípidos de las membranas de las arqueas contienen también algunos hidrocarburos de cadena ramificada.

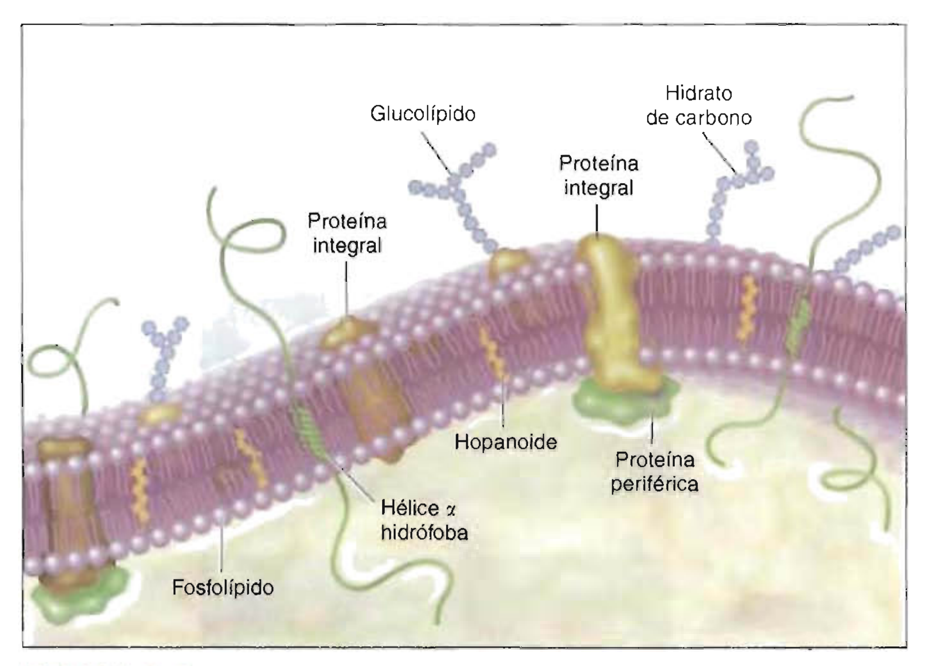


FIGURA 2-8

Membrana plasmática bacteriana

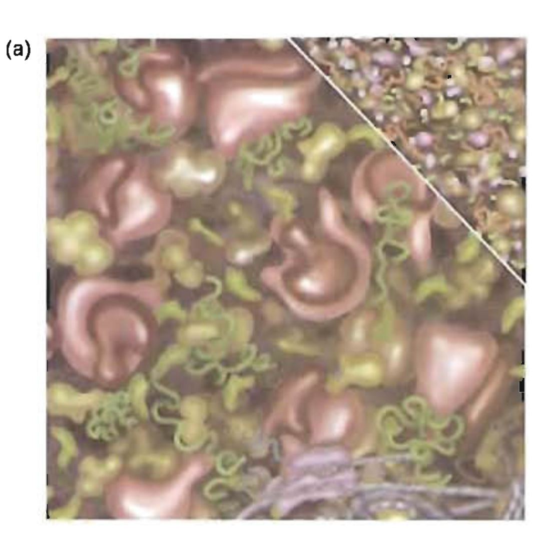
En esta imagen simplificada de la membrana plasmática se señalan varias clases de proteínas y lípidos. Muchas de estas proteínas y determinados lípidos están unidos de forma covalente a moléculas de hidratos de carbono. (Los glucolípidos contienen grupos de hidratos de carbono.) Los hopanoides son moléculas lipídicas complejas que estabilizan las membranas bacterianas.

Citoplasma

A pesar de la ausencia de membranas internas, las células procariotas parecen tener compartimientos funcionales (Fig. 2-9). El más evidente es el **nucleoide**, una región espaciosa de forma irregular que contiene una molécula larga de DNA circular denominada **cromosoma**. El cromosoma bacteriano está unido a la membrana plasmática. Normalmente posee numerosas regiones de una estructura muy enrollada y otras que están desenrolladas. También se encuentran dentro del nucleoide los complejos proteicos que participan en la síntesis de DNA y la regulación de la expresión de los genes. Muchas bacterias contienen también otras moléculas de DNA circular pequeño denominadas **plásmidos**, que se encuentran separadas del cromosoma de la célula en otro lugar del citoplasma. Aunque no son necesarios para la proliferación o la división de la célula, los plásmidos normalmente proporcionan a la célula alguna ventaja bioquímica sobre las otras células que carecen de ellos. Por ejemplo, frecuentemente se encuentran en los plásmidos segmentos de DNA que codifican la resistencia a los antibióticos. En presencia del antibiótico, las células resistentes sintetizan una proteína que inactiva al antibiótico antes de que éste pueda dañar a la célula. Estas células continúan creciendo y reproduciéndose, mientras que las células susceptibles mueren.

A bajos aumentos, el citoplasma de los procariotas tiene un aspecto uniforme y granuloso, excepto los cuerpos de inclusión, que son gránulos grandes que contienen sustancias orgánicas o inorgánicas. Entre los cuerpos de inclusión se encuentran los depósitos de glucógeno, las grasas (moléculas de almacenamiento de energía) o los polifosfatos. La porción restante del citoplasma está llena de ribosomas y muchas clases de enzimas y complejos moleculares que realizan tareas de rutina como la síntesis y degradación de las biomoléculas.

(a)



(b)

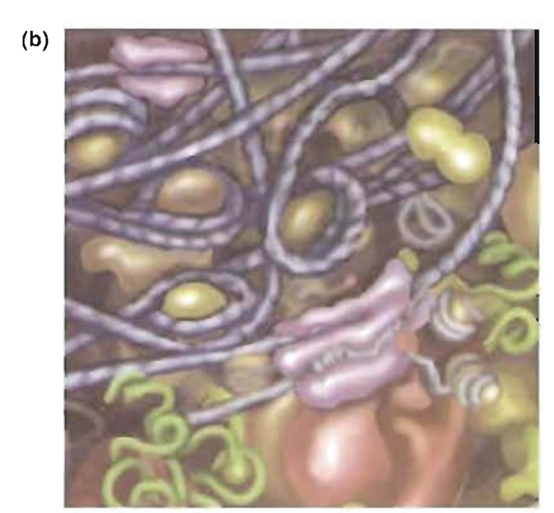


FIGURA 2-9

Citoplasma bacteriano

(a) El citoplasma es una mezcla compleja de proteínas, ácidos nucleicos y una enorme variedad de iones y moléculas pequeñas. Por claridad, sólo se dibujan las moléculas pequeñas en el extremo superior derecho. (b) Imagen más cercana del nucleoide. Obsérvese que el DNA está enrollado y plegado alrededor de moléculas de proteínas.

Pili y flagelos

Muchas células bacterianas tienen apéndices externos. Los *pili* son estructuras que permiten a las células unirse a las fuentes alimenticias y a los tejidos de los hospedadores. Los pili sexuales los utilizan algunas bacterias para transferir información genética de las células donadoras a las receptoras, un proceso que se denomina *conjugación* (Fig. 2-10). En las bacterias, el *flagelo* es un filamento proteico flexible con forma de sacacorchos que se utiliza para el movimiento (Fig. 2-11). Las células son empujadas hacia delante cuando giran los flagelos, en una dirección en contra del sentido de las agujas del reloj, mientras que el giro en sentido de las agujas del reloj produce la detención y un movimiento tambaleante, que permite a la célula volver a orientarse y realizar un nuevo recorrido hacia delante. El filamento del flagelo está anclado a la célula por un complejo proteico. Entre los muchos componentes de este complejo se encuentran las proteínas motoras, que convierten la energía química en movimiento rotatorio.

CONCEPTOS CLAVE 2.5

Las células procariotas son pequeñas y estructuralmente sencillas. Están rodeadas por una pared celular y una membrana plasmática. Carecen de núcleo y otros orgánulos. Sus moléculas de DNA, que son circulares, están situadas en una región de forma irregular, que se denomina nucleoide. A bajos aumentos, los ribosomas parecen estar presentes en un citoplasma, por lo demás, sin características.

FIGURA 2-10

Pili bacterianos

En esta fotografía de microscopio electrónico, un pilum sexual conecta dos células de *E. coli* que se conjugan. Obsérvense los numerosos pili pequeños que cubren la superficie de una de las células.

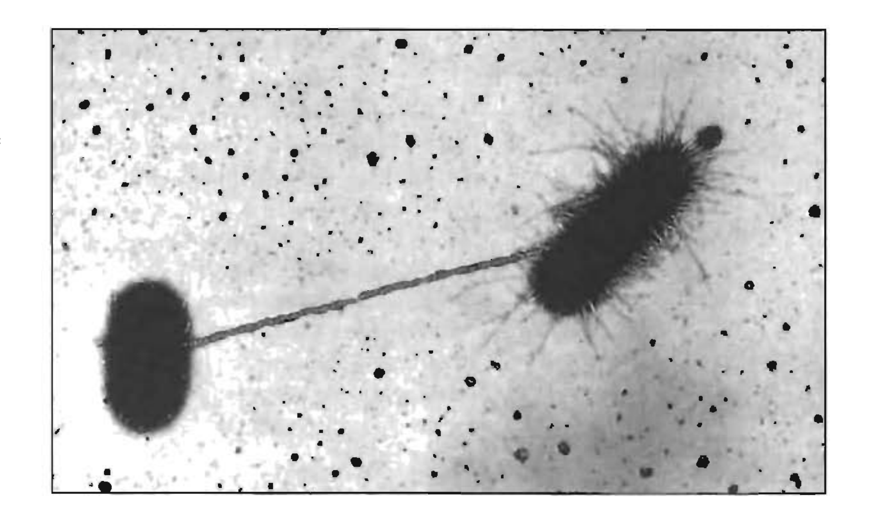
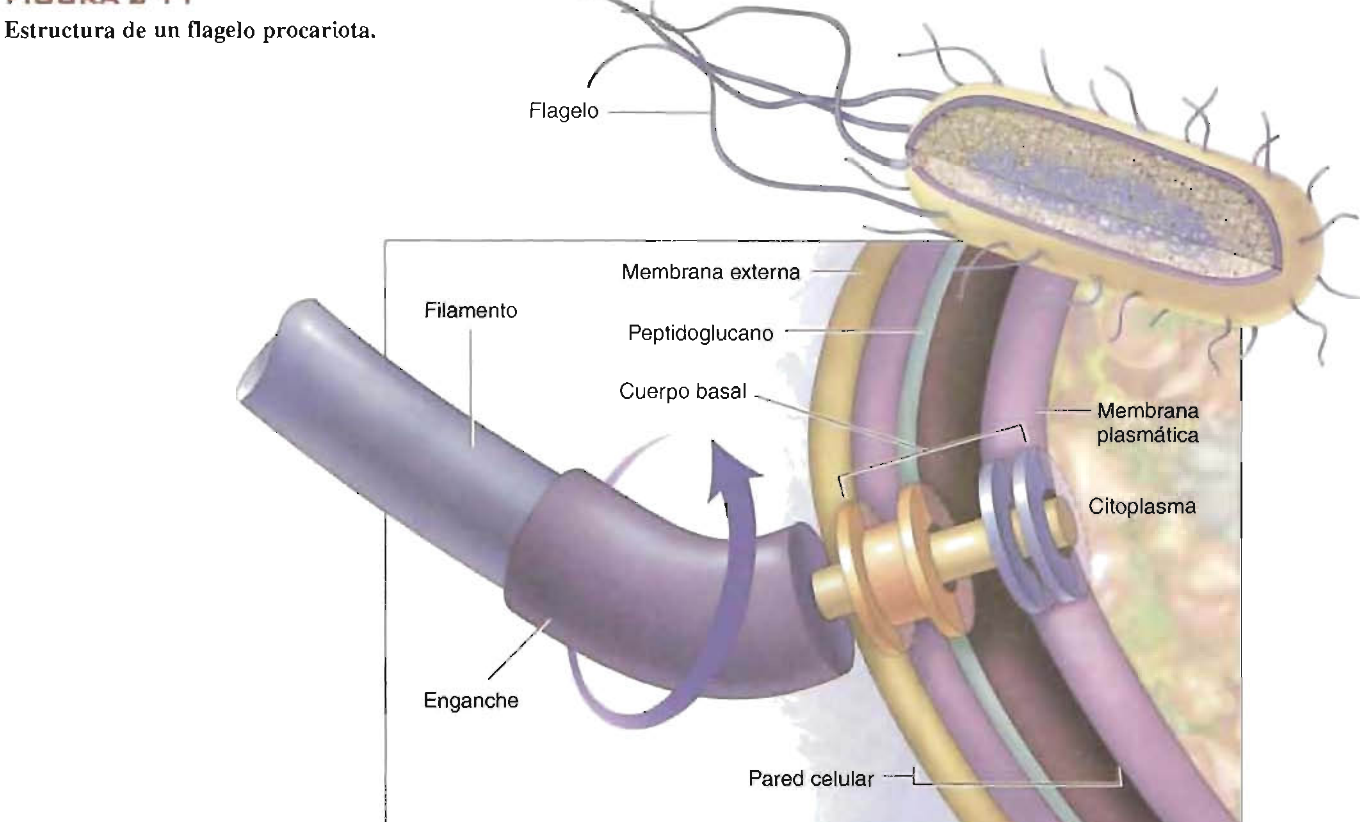


FIGURA 2-11

Estructura de un flagelo procariota.



PREGUNTA 2.1

Un hepatocito (célula del hígado) humano característico, una célula eucariota muy estudiada, tiene un diámetro de unos 20 μm. Calcule el volumen de una célula procariota y una célula eucariota. Para apreciar la magnitud de la diferencia de tamaño entre las dos clases de células, calcule cuántas células bacterianas cabrían dentro de una célula del hígado. (*Pista*: Utilice la expresión $V = \pi r^2 h$ para el volumen de un cilindro y $V = 4\pi r^3/3$ para el volumen de una esfera.)

2.3. ESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS EUCARIOTAS

La complejidad estructural de las células eucariotas permite una regulación mucho más sofisticada de los procesos vivos que la que es posible en los procariotas. Los orgánulos y otras estructuras dentro de estas células están organizados en entidades dinámicas eficaces y muy integradas. Aunque la mayoría de las células eucariotas posee características estructurales semejantes, no existe una célula eucariota «característica». Cada tipo celular posee sus propias características e structurales y propiedades funcionales. Sin embargo, son lo suficientemente similares que es útil presentar los componentes básicos. En las Figuras 2.12 y 2.13 se presentan las estructuras generalizadas de las células de los animales y los vegetales, las formas principales de los organismos eucariotas multicelulares. En las secciones siguientes se describen brevemente la estructura y las propiedades funcionales de cada componente celular.

Membrana plasmática

La membrana plasmática, como todas las membranas celulares, está formada por una bicapa lipídica en la que realizan muchas de sus funciones las proteínas integradas y las unidas. Sobre la superficie externa de muchas células eucariotas hay una estructura denominada **glucocáliz** (Fig. 2-14) que está formado, en gran medida, por moléculas de hidratos de carbono unidas a las proteínas de la membrana y a determinadas moléculas de lípidos.

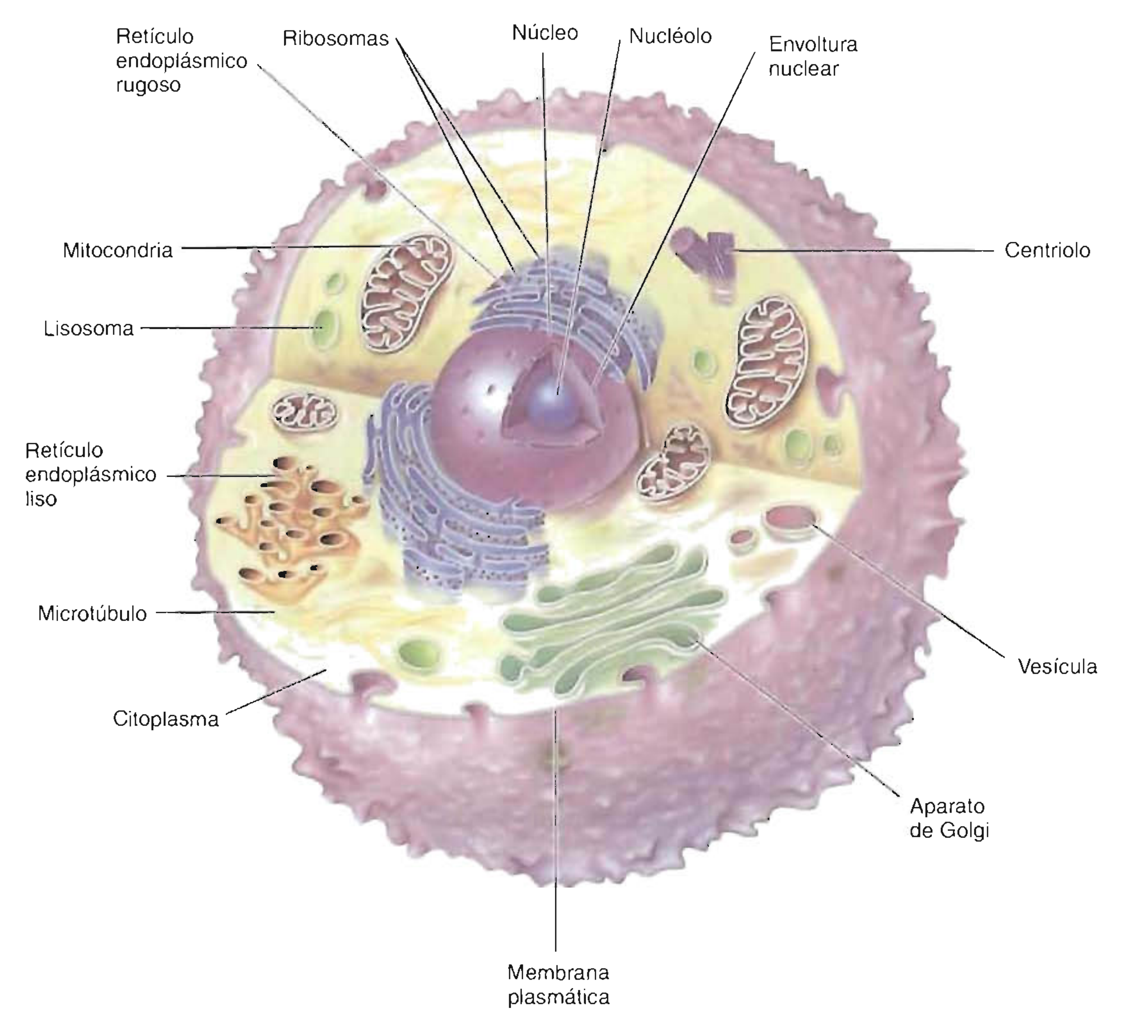


FIGURA 2-12
Estructura de una célula animal.

Microfilamentos
Membrana plasmática
Pared celular
Cloroplasto
Vacuola
Aparato de Golgi
Citoplasma
Mitocondria
Retículo endoplásmico rugoso
Nucléolo
Envoltura nuclear
Núcleo
Ribosomas
Retículo endoplásmico liso
Vesícula

FIGURA 2-13
Estructura de una célula vegetal.

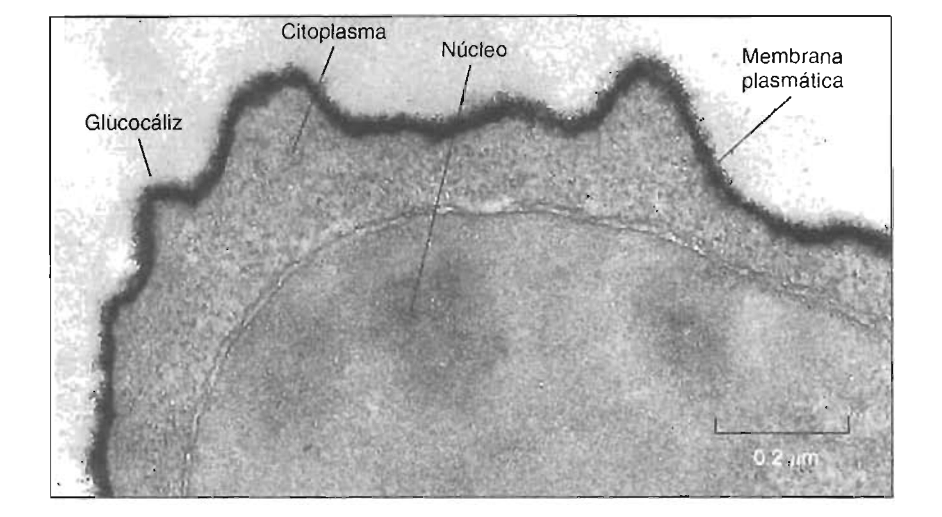


FIGURA 2-14
El glucocáliz
Fotografía de microscopía electrónica de la superficie de un linfocito teñido para descubrir el glucocáliz (capa superficial celular).

La membrana plasmática de las células eucariotas realiza varias funciones vitales. Como todas las membranas plasmáticas, proporciona a la célula la forma y parte de la resistencia mecánica y protección, así como una barrera de permeabilidad. El glucocáliz relativamente grueso colabora en estas funciones. La membrana plasmática, que posee una diversidad de canales complejos que transportan iones, moléculas y **receptores** que unen las moléculas señalizadoras, también participa en diversas clases de transporte y de procesos de señalización.

Las membranas plasmáticas de los eucariotas multicelulares poseen propiedades estructurales que les permiten operar dentro de grupos de células. Las porciones especializadas de la membrana plasmática contienen complejos moleculares que permiten la formación de contactos fuertes entre las células para facilitar el transporte de metabolitos entre éstas, y el funcionamiento integrado de las células dentro de los tejidos y los órganos. En los tejidos animales, las células segregan proteínas e hidratos de carbono que forman la **matriz extracelular**, un material gelatinoso que une a las células y a los tejidos. En las células vegetales, la protección la proporciona principalmente una pared celular gruesa formada primariamente por fibras del polisacárido celulosa, que sintetizan los complejos enzimáticos de la superficie de la membrana plasmática. Las fibras de celulosa recién sintetizadas quedan integradas en una matriz que contiene otros polisacáridos y algunas proteínas. La estructura rígida de la pared celular protege a la célula del daño que produciría la presión enorme del agua en las plantas vasculares.

CONCEPTOS CLAVE 2.6

Además de proporcionar resistencia mecánica y forma a la célula, la membrana plasmática participa de forma activa en la selección de las moléculas que pueden entrar o salir de la célula. Los receptores sobre la superficie de la membrana plasmática permiten a la célula responder a los estímulos externos.

Núcleo

El **núcleo** (Fig. 2-15) está formado por un nucleoplasma rodeado por una envoltura nuclear. El **nucleoplasma** es un material con abundante DNA en el que las proteínas, denominadas *laminas*, forman una red fibrosa que proporciona un soporte estructural. Una característica destacada del nucleoplasma es una red de **fibras de cromatina** formada por DNA y proteínas de empaquetamiento del DNA conocidas como *histonas*. Se piensa que el DNA está unido a las laminas. La **envoltura nuclear** está formada por dos membranas que se fusionan en estructuras denominadas **poros nucleares**. La membrana nuclear externa es continua con el retículo endoplásmico

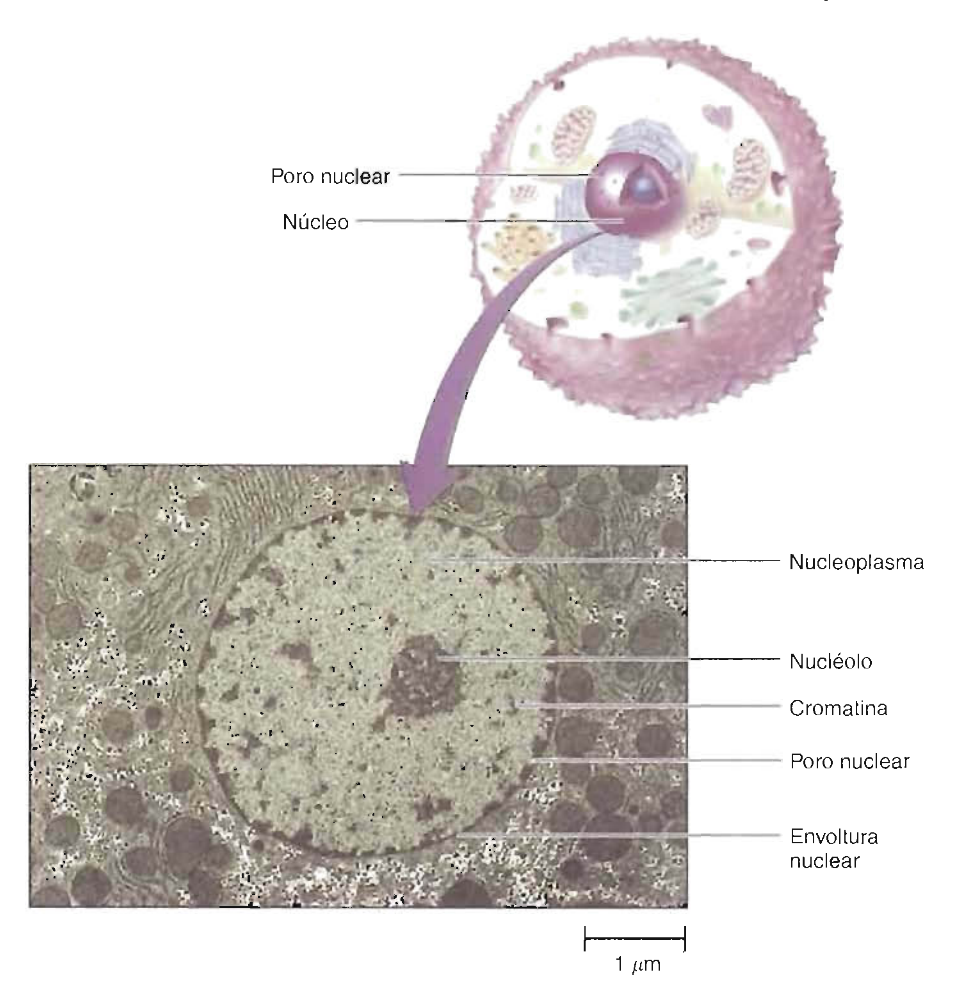
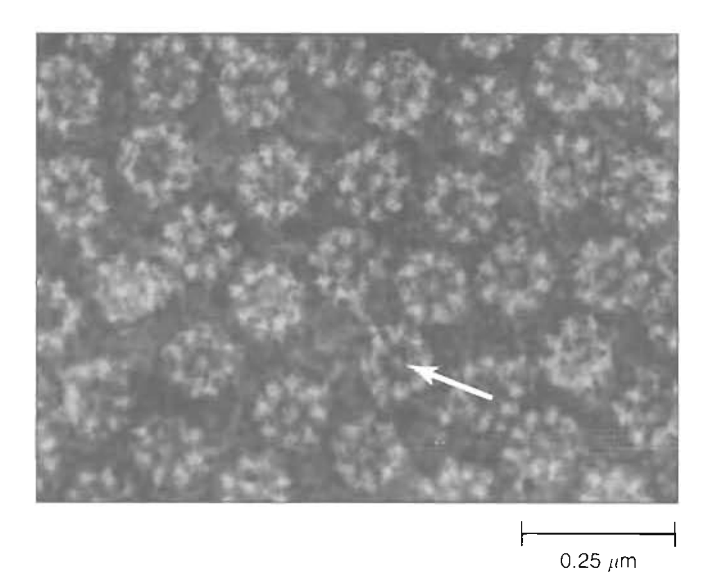


FIGURA 2-15
Núcleo eucariota
El núcleo es un orgánulo rodeado por una membrana doble, la envoltura nuclear.

rugoso. Los poros nucleares (Fig. 2-16) son estructuras relativamente grandes y complejas a través de las cuales pasan la mayoría de las moléculas que entran y salen del núcleo. Muchas de estas sustancias, como los iones, las proteínas pequeñas y otras moléculas, difunden a través del complejo de poros nucleares. El movimiento de las moléculas más grandes, como el RNA y las proteínas grandes, dentro y fuera del núcleo se cree que está regulado por proteínas componentes de un complejo de transporte situado en el centro, denominado *tapón de poros nucleares* (véase la Fig. 2-16).

Se ha reconocido desde hace tiempo la importancia del núcleo en la regulación de la función celular. Sin embargo, su mecanismo de control no se entendía hasta que se descubrió el significado de su componente principal, el DNA (véase el Capítulo 16). Actualmente se sabe que el núcleo realiza dos funciones fundamentales. En primer lugar, contiene la información hereditaria de la célula. En segundo lugar, el núcleo ejerce una influencia profunda sobre todas las actividades metabólicas celulares. Esta influencia, que se ejerce dirigiendo la síntesis de los componentes proteicos de la célula, está, a su vez, afectada por el paso de moléculas en ambos sentidos entre el citoplasma y el núcleo.

Cuando se tiñen los núcleos con determinados colorantes, se hacen visibles una o varias estructuras esféricas denominadas nucléolos. El **nucléolo** es el lugar de la síntesis del RNA ribosómico. Su contenido elevado de RNA le hace teñirse de forma diferente al resto del núcleo.



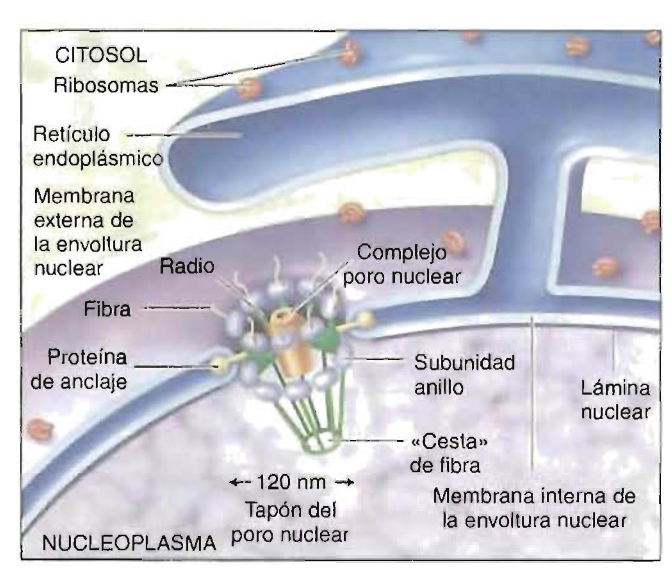


FIGURA 2-16
Complejo de poro nuclear
La envoltura nuclear está tachonada de estructuras complejas de poros nucleares, una de las cuales está señalada por la flecha en la fotografía superior.

CONCEPTOS CLAVE 2.7

El núcleo contiene la información genética de la célula y la maquinaria para convertir esa información en moléculas de proteína. El nucléolo desempeña un papel importante en la síntesis del RNA ribosómico. El RER participa principalmente en la síntesis de proteínas. El REL carece de ribosomas unidos y participa en la síntesis de lípidos y en la biotransformación.

Retículo endoplásmico

El **retículo endoplásmico (RE)** es un sistema de túbulos, vesículas y grandes sacos planos membranosos interconectados. Una indicación de su importancia en el funcionamiento celular es que frecuentemente constituye más de la mitad de las membranas totales de una célula. Las láminas continuas de membranas de RE plegadas repetidamente encierran un espacio interno denominado *luz* del RE. Este compartimiento, que se denomina *espacio de las cisternas*, está totalmente separado del citoplasma por la membrana del RE.

Existen dos formas de RE (Fig. 2-17). El **RE rugoso (RER)**, que participa principalmente en la síntesis de las proteínas de las membranas y las proteínas que va a exportar la célula, se denomina así debido a los numerosos ribosomas que salpican su superficie citoplásmica. La segunda forma carece de ribosomas unidos y se denomina **RE liso (REL)**. Aunque las membranas del REL son continuas con las del RER, sus apariencias físicas pueden ser significativamente diferentes. Por ejemplo, en los hepatocitos (la clase de célula predominante en el hígado) el REL está formado por una red tubular que penetra en grandes regiones del citoplasma. Entre las funciones del REL se encuentran la síntesis de lípidos y la **biotransformación**, un proceso por el cual se preparan para su eliminación las moléculas orgánicas insoluble en agua.

Ribosomas

Los **ribosomas** del citoplasma de los eucariotas son complejos de RNA y proteínas con un diámetro de 20 nm, cuya función es la biosíntesis de las proteínas. Formados

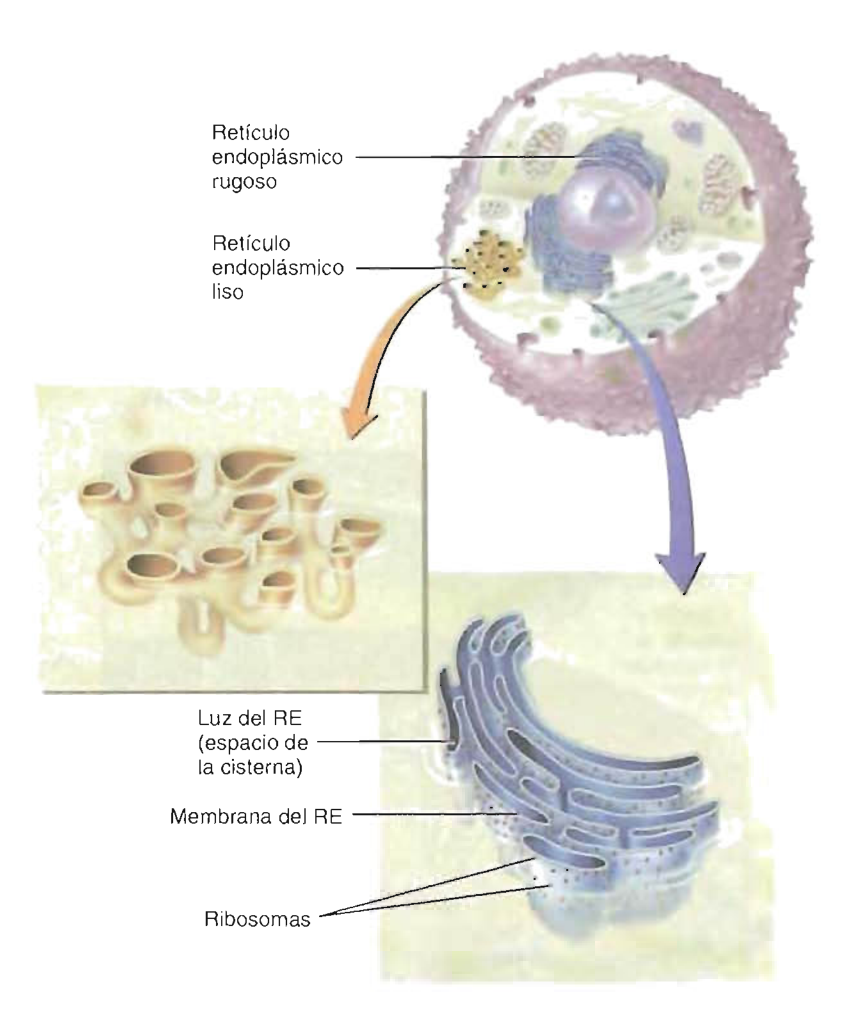


FIGURA 2-17

Retículo endoplásmico

Existen dos formas de retículo endoplásmico: RER, el retículo endoplásmico rugoso, y REL, el retículo endoplásmico liso.

por diversas proteínas y una clase de RNA denominado RNA ribosómico (rRNA), los ribosomas son estructuras complejas que contienen dos subunidades de forma irregular y de tamaño desigual (Fig. 2-18). Se juntan para formar los ribosomas completos cuando se inicia la síntesis de proteínas; cuando no se utilizan las subunidades ribosómicas, están separadas. El número y la distribución de los ribosomas de una célula dependen de la actividad metabólica relativa y de las proteínas que se sintetizan. Aunque los ribosomas de los eucariotas son más grandes y complejos que los de los procariotas, en su forma global y su función son similares.

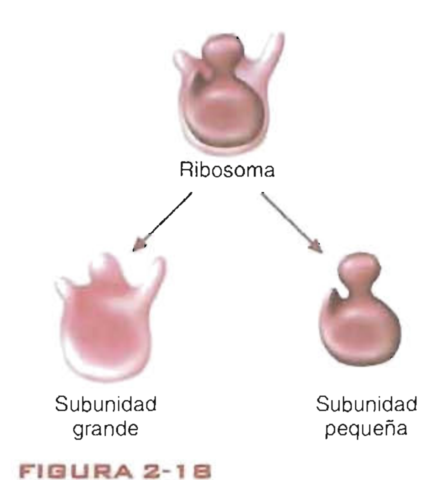


FIGURA 2-18
Ribosoma eucariota.

Aparato de Golgi

El **aparato de Golgi** (llamado también **complejo de Golgi**), recibe este nombre por el biólogo celular italiano Conde Camilo Golgi, que lo describió por vez primera en 1898. Formado por vesículas membranosas en forma de saco, relativamente grandes y aplanadas que se parecen a una pila de platos, el aparato de Golgi (llamado **dictiosoma** en los vegetales) participa en el empaquetamiento y la distribución de los productos celulares hacia los compartimientos interno y externo (Fig. 2-19).

El apararo de Golgi tiene dos caras. La lámina (o *cisterna*), situada más cerca del RE, está en la cara formadora (*cis*), mientras que la que está en la cara maduradora (*trans*), está habitualmente cerca de la porción de la membrana plasmática de la célula que actúa en la secreción. Sobresalen del RE y se funden con la membrana *cis* del Golgi pequeñas vesículas membranosas que contienen proteínas y lípidos recién sintetizados. Estas moléculas se transportan desde un saco del Golgi al siguiente por vesículas, donde son procesadas por enzimas. Una vez que alcanzan los productos, la cara *trans* se dirige a otras partes de la célula. Los productos de secreción, como las enzimas digestivas o las hormonas, se concentran dentro de *vesículas secretoras* (también llamadas *gránulos secretores*) que sobresalen de la cara *trans*. Los gránu-

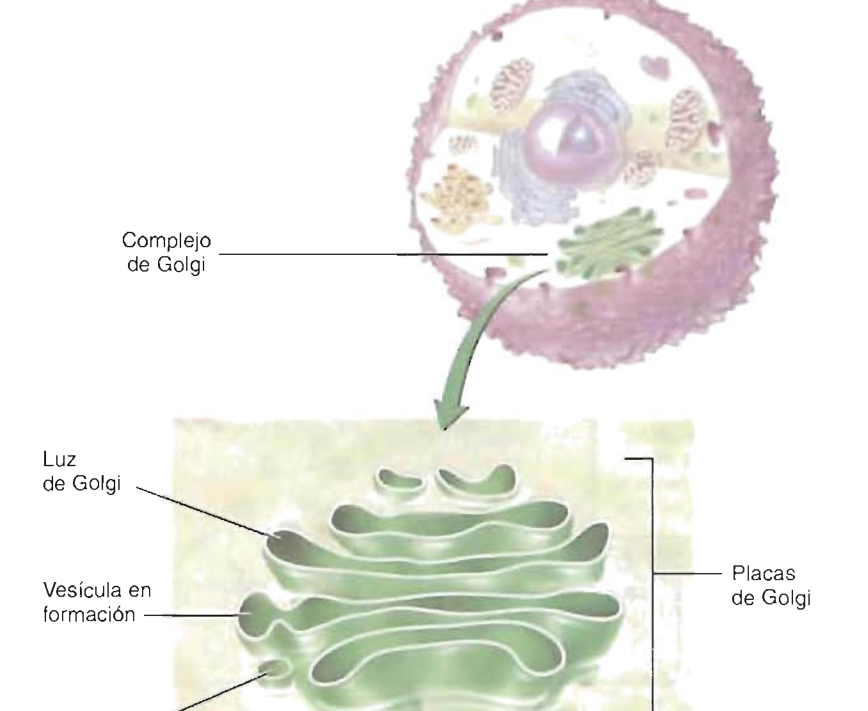


FIGURA 2-19
Aparato de Golgi.

CONCEPTOS CLAVE 2.8

Formado por vesículas membranosas relativamente grandes, planas y en forma de saco, el aparato de Golgi participa en el empaquetamiento y la secreción de los productos celulares.

los secretores permanecen almacenados en el citoplasma hasta que se estimula su secreción. El proceso de secreción, denominado **exocitosis**, consiste en la fusión de los gránulos unidos a la membrana con la membrana plasmática (Fig. 2-20). A continuación se libera al espacio extracelular el contenido de los gránulos. En los vegetales, las funciones del aparato de Golgi son el transporte de sustancias a la pared celular y la expansión de la membrana plasmática durante el crecimiento celular.

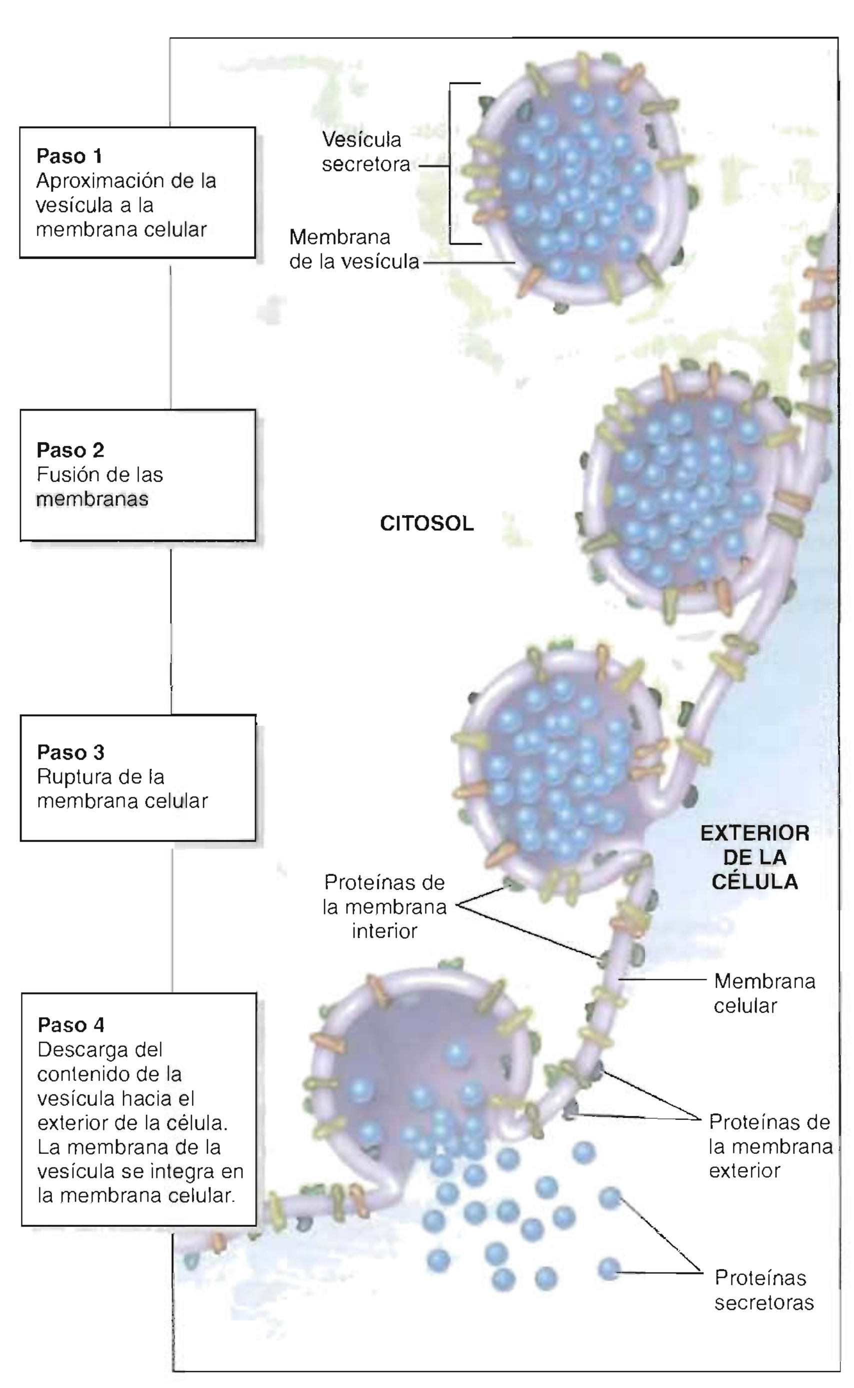


FIGURA 2-20

Exocitosis

Las proteínas producidas en el RE se procesan en el aparato de Golgi y se empaquetan en vesículas que migran a la membrana plasmática y emergen con ésta.

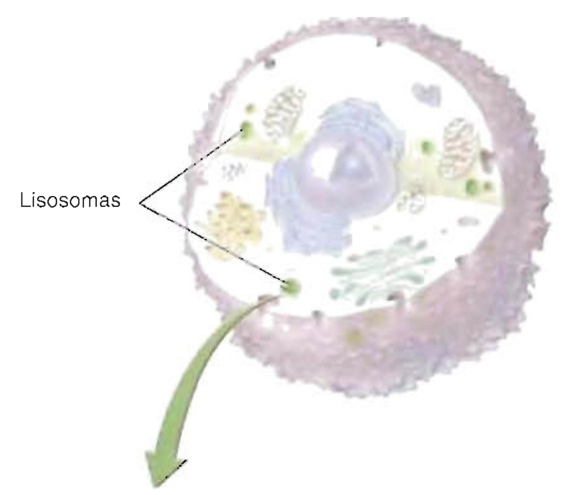
Lisosomas

Aunque el aspecto de los **lisosomas** difiere de un tipo celular a otro, son típicamente orgánulos esféricos con forma de saco con un diámetro promedio de 500 nm (Fig. 2-21). Rodeados por una única membrana, los lisosomas contienen gránulos que son agregados de enzimas digestivas. Estas proteínas se denominan *hidrolasas ácidas* debido a que requieren un medio ácido para actuar adecuadamente y a que utilizan las moléculas de agua para escindir las moléculas grandes en fragmentos. (Dado que las vacuolas de los vegetales contienen hidrolasas ácidas, se considera que, en cierta medida, actúan como lisosomas. Las vacuolas de los vegetales son sacos membranosos que almacenan una gran variedad de sustancias.)

Los lisosomas actúan en la digestión intracelular y extracelular. Son capaces de degradar la mayor parte de las biomoléculas. Los lisosomas participan en la vida celular de tres formas fundamentales: (1) mediante la digestión de las moléculas del alimento y otras sustancias captadas en la célula por **endocitosis** (proceso que se ilustra en la Fig. 2-22), (2) mediante la digestión de los componentes celulares gastados o innecesarios, y (3) mediante la degradación del material extracelular.



Son especialmente interesantes dos propiedades de la membrana lisosómica. La primera es que determinadas proteínas de la membrana transportan protones a través de la membrana, creando así el medio ácido que se requiere dentro de los lisosomas. La segunda es que en determinadas circunstancias las enzimas lisosómicas se escapan a otras partes de la célula. Esto normalmente tendría consecuencias devastadoras, dado que todo el contenido celular sería finalmente degradado. En varias enfermedades, como la artritis reumatoide y la gota, los macrófagos (un leucocito que



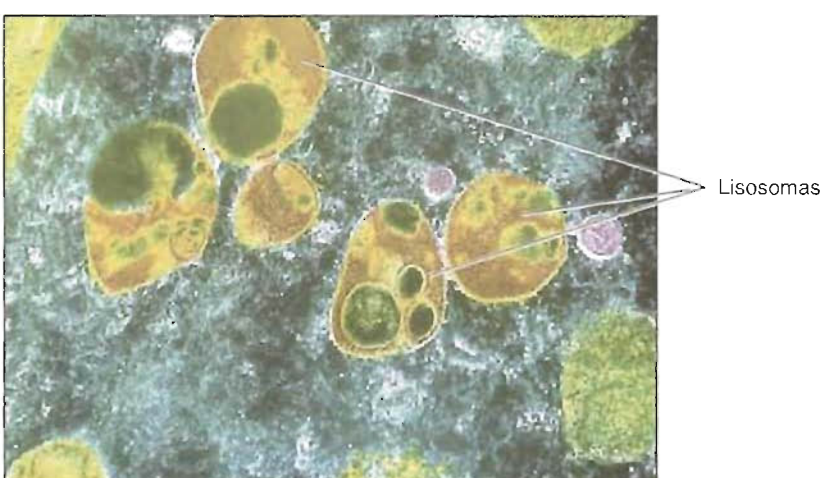
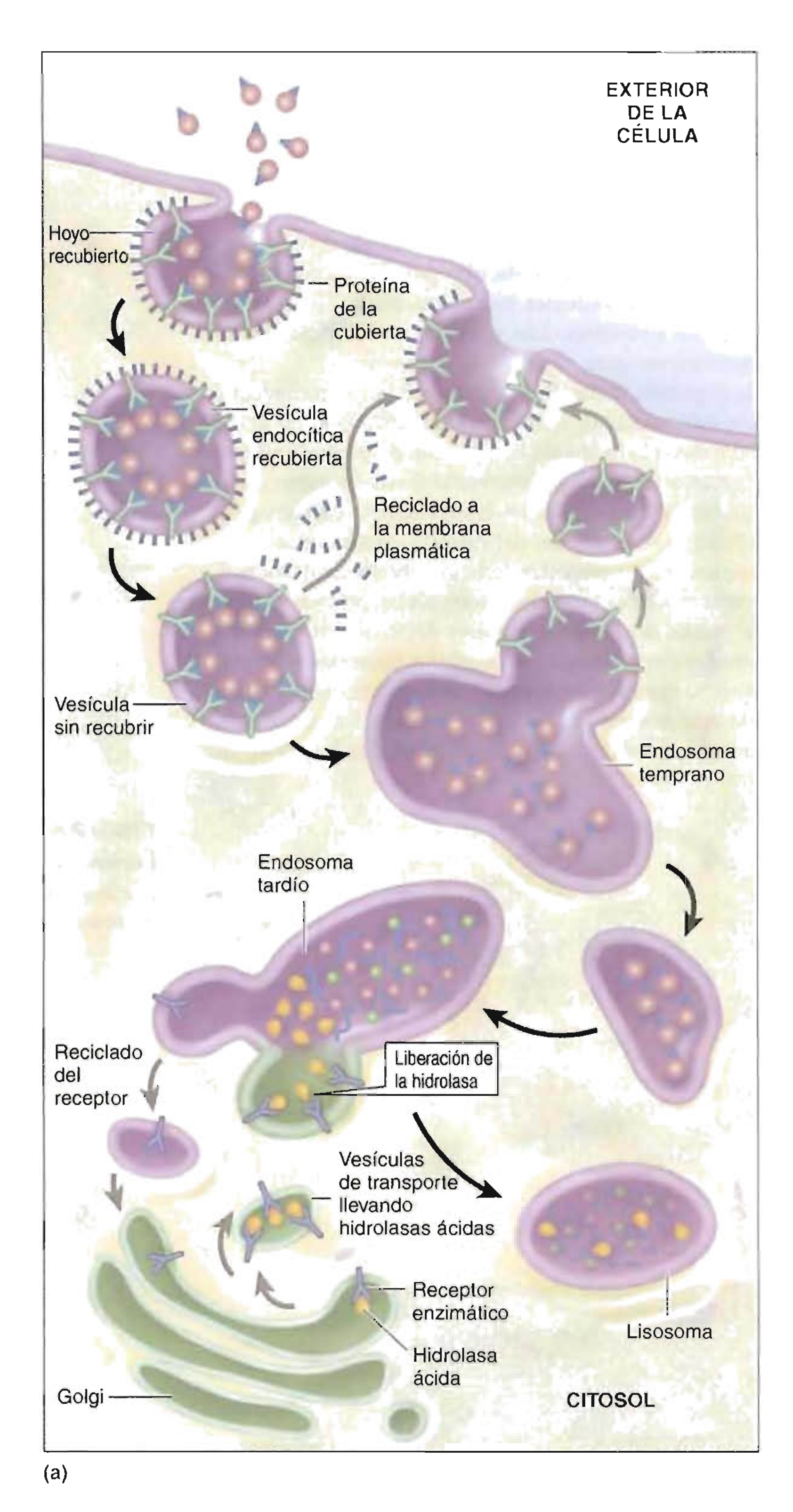


FIGURA 2-21
Lisosomas
Los lisosomas son sacos membranosos que contienen enzimas hidrolíticas.

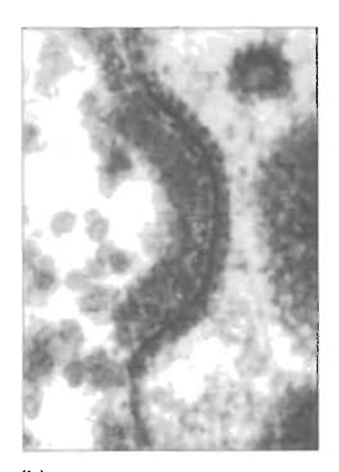
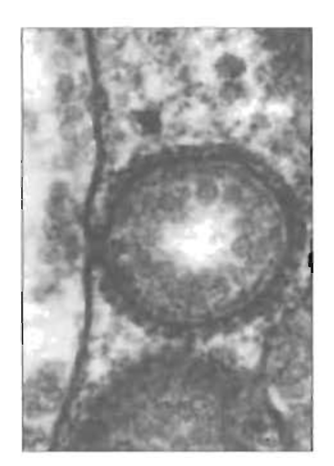
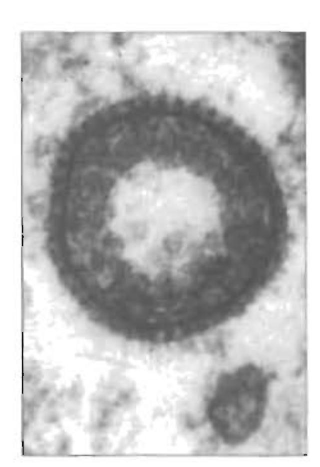


(a)

FIGURA 2-22

Endocitosis mediada por el receptor

(a) Las sustancias extracelulares pueden entrar en la célula durante la endocitosis, un proceso en el que las moléculas receptoras de la membrana plasmática se unen a moléculas específicas o complejos moleculares denominados ligandos. Las regiones especializadas de la membrana plasmática, denominadas hoyos recubiertos, se invaginan progresivamente para formar vesículas cerradas. Tras eliminarse las proteínas de la cubierta, la vesícula se fusiona con un endosoma precoz, el precursor de los lisosomas. Las proteínas de la cubierta se reciclan a continuación hacia la membrana plasmática. Durante la maduración del endosoma aumenta la concentración de protones y se liberan los ligandos de sus receptores que a continuación se reciclan también al volver a la membrana plasmática. Al continuar la maduración del endosoma, el aparato de Golgi proporciona las hidrolasas lisosómicas. La formación del lisosoma se completa cuando se han transferido todas las hidrolasas al endosoma tardío y se ha reciclado la membrana de Golgi de nuevo al aparato de Golgi. (b) Fotografías de microscopía electrónica que ilustran los acontecimiento iniciales de la endocitosis.

(b)

desempeña un papel importante en las respuestas inflamatorias) liberan enzimas lisosómicas. La liberación de estas enzimas en el tejido afectado contribuye a aumentar la inflamación y la destrucción tisular.

Aunque la función de los lisosomas tiene características comunes en varios tejidos, difieren sus funciones específicas. Por ejemplo, los lisosomas de los macrófagos son componentes destacados en los procesos inmunológicos normales por medio de los cuales se degradan las células dañadas y los organismos ajenos. Las enzimas lisosómicas que segregan los osteoclastos son, en gran medida, responsables de la fase de resorción del remodelado óseo.

CONCEPTOS CLAVE 2.9

La función de los lisosomas es la digestión intracelular y extracelular. Estos orgánulos membranosos esféricos contienen un grupo de enzimas denominadas hidrolasas, que degradan la mayoría de las biomoléculas.





En muchas enfermedades genéticas, la enzima lisosómica necesaria para degradar una molécula específica no existe o es defectuosa. La enfermedad de Tay-Sachs es un ejemplo de estas enfermedades, que suelen denominarse *enfermedades lisosómicas de almacenamiento*. Las personas afectadas heredan un gen defectuoso de cada progenitor que codifica una enzima que degrada una molécula lipídica compleja. Entre los síntomas se encuentran un retraso mental importante y la muerte antes de los 5 años de edad. ¿Cuál es la naturaleza del proceso que destruye a las células del paciente? (*Pista*: La síntesis de la molécula lipídica continúa a una tasa normal.)

Peroxisomas

Los **peroxisomas** son pequeños orgánulos membranosos esféricos que contienen enzimas oxidativas (proteínas que catalizan la transferencia de electrones). Estos orgánulos, cuya composición enzimática varía entre las especies y las células dentro de un organismo individual, son conocidos por su participación en la generación y degradación de moléculas tóxicas denominadas *peróxidos*. Por ejemplo, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se genera cuando se utiliza el oxígeno molecular (O_2) para eliminar los átomos de hidrógeno de moléculas orgánicas específicas. Una vez formado, el H_2O_2 debe destruirse inmediatamente antes de que dañe a la célula. Este proceso tiene una importancia especial en las células hepáticas y renales, que poseen un papel importante en las desintoxicaciones en los animales. Por ejemplo, los peroxisomas participan en la oxidación del etanol ingerido.

En los vegetales se han identificado dos clases de peroxisomas. Una, que se encuentra en las hojas, es responsable de un proceso que consume oxígeno conocido como *fotorrespiración*, en el que se produce dióxido de carbono (CO_2). La otra clase

CONCEPTOS CLAVE 2.10

Los peroxisomas contienen enzimas oxidativas. Son importantes por su participación en la generación y degradación de moléculas tóxicas conocidas como peróxidos.

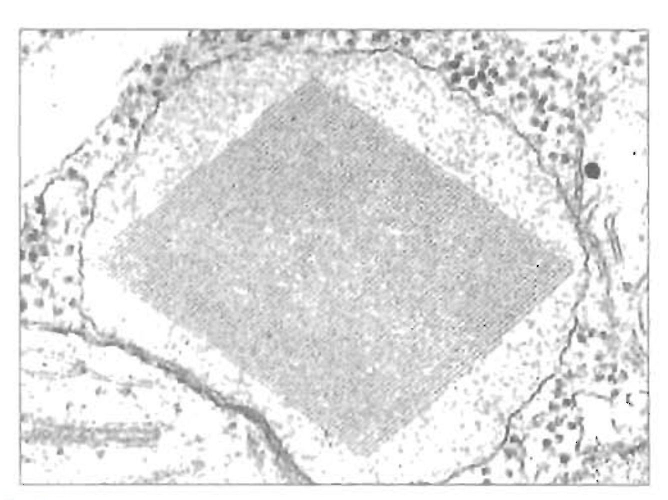


FIGURA 2-23

Peroxisoma en una célula de una hoja de tabaco

La sustancia granular que rodea el centro cristaloide se denomina matriz.

de peroxisomas (llamados **glioxisomas**) se encuentra en las semillas que germinan. En estas estructuras las moléculas lipídicas se convierten en hidratos de carbono, que proporcionan energía para el crecimiento y el desarrollo (Fig. 2-23).

Mitocondrias

El **metabolismo aerobio**, el mecanismo mediante el cual la energía del enlace químico de las moléculas de alimento se captura y utiliza para impulsar la síntesis dependiente del oxígeno de la adenosina trifosfato (ATP), la molécula de almacenamiento de energía de las células, tiene lugar dentro de las mitocondrias.

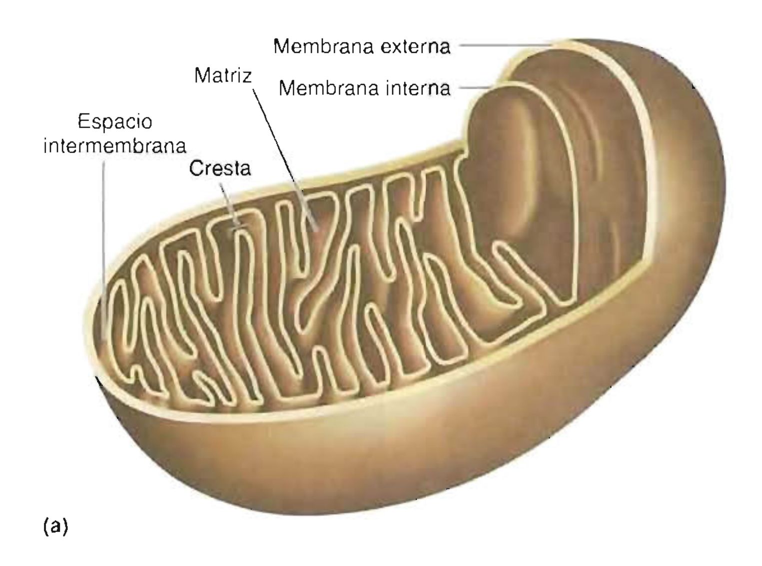
Cada **mitocondria** está rodeada por dos membranas (Fig. 2-24a). La **membrana externa** lisa es relativamente porosa, debido a que es permeable para la mayoría de las moléculas con masas inferiores a 10 000 D. La **membrana interna**, que es impermeable a los iones y a diversas moléculas orgánicas, se proyecta hacia el interior en pliegues denominados *crestas*. En esta membrana se encuentran integradas estructuras formadas por complejos moleculares que se denominan *ensamblajes respiratorios* (descritos en el Capítulo 10) que son responsables de la síntesis de ATP. Presentes también hay una serie de proteínas que son responsables del transporte de moléculas e iones específicos.

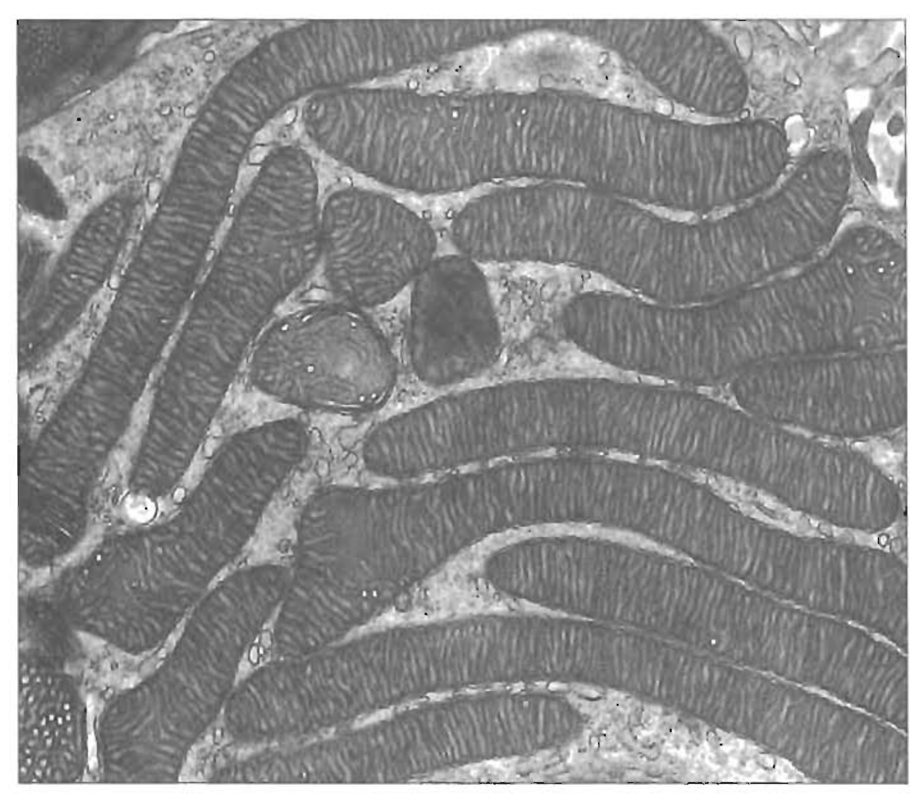
Juntas, ambas membranas crean dos compartimientos separados: (1) el *espacio intermembrana* y (2) la *matriz*. El espacio intermembrana contiene varias enzimas que participan en el metabolismo de los nucleótidos, mientras que la matriz, gelatinosa, está formada por una concentración elevada de enzimas e iones y una miríada de moléculas orgánicas pequeñas. La matriz contiene también varias moléculas de DNA circular y todos los componentes que se requieren para la síntesis de proteínas. Debe señalarse que las mitocondrias son capaces de una fisión independiente y que el número de mitocondrias por célula varía con la actividad de la célula (véase el Recuadro de interés especial 2.1).

Con frecuencia se representa a las mitocondrias como estructuras con forma de salchicha (Fig. 2-24b), pero su aspecto varía considerablemente entre las diferentes especies y tipos celulares. Su configuración cambia también con el estado fisiológico de la célula. Por ejemplo, se ha observado que la apariencia interna de las mitocondrias hepáticas cambia considerablemente durante la respiración activa (Fig. 2-25). Además, la fragmentación o hinchamiento desordenado de las mitocondrias es un indicador muy sensible del daño celular.

CONCEPTOS CLAVE 2.11

La respiración aerobia, el proceso que genera la mayoría de la energía que requieren los eucariotas, tiene lugar en las mitocondrias. Integradas en la membrana interna de la mitocondria están los ensamblajes respiratorios, donde se sintetiza el ATP.





(b)

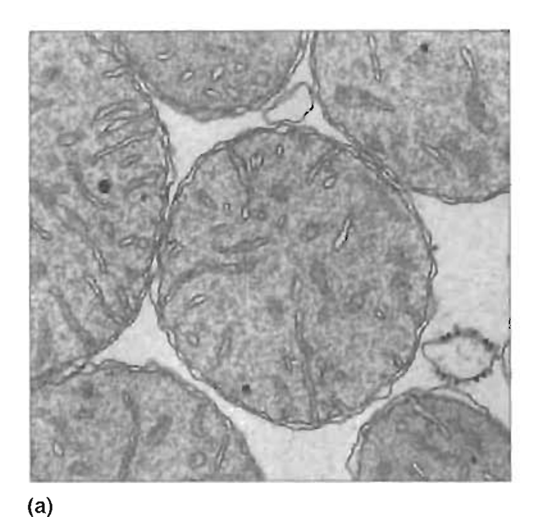
FIGURA 2-24

Mitocondria

(a) Membranas y crestas. (b) Mitocondrias de la corteza suprarrenal.

Plástidos

Los **plástidos**, estructuras que sólo se encuentran en las plantas, las algas y algunos protistas, están rodeados por una membrana doble. Aunque la membrana interna no está plegada como en las mitocondrias, con frecuencia se encuentra presente otra membrana interna separada que se dispone de forma enrevesada. En las plantas,


(a)


(b)

FIGURA 2-25

Mitocondrias de hígado de rata en las conformaciones (a) de energía baja (ortodoxa) y (b) de energia elevada (condensada).

todos los plástidos se forman a partir de *protoplástidos*, que son estructuras pequeñas casi incoloras que se encuentran en el meristemo (una región especial de las plantas formada por células indiferenciadas a partir de las cuales se forman los tejidos nuevos). Los protoplástidos se van formado de acuerdo con los requerimientos de cada célula diferenciada. Los plástidos maduros son de dos clases: (1) *leucoplastos*, que almacenan sustancias como el almidón o las proteínas en órganos de almacenamiento (p. ej., las raíces o los tubérculos), y (2) **cromoplastos**, que acumulan los pigmentos que son responsables de los colores de las hojas, los pétalos de las flores y las frutas.

Los **cloroplastos** son una clase de cromoplastos que están especializados en la conversión de la energía luminosa en energía química. En este proceso, que se denomina **fotosíntesis** y que se describirá en el Capítulo 13, se utiliza la energía luminosa para impulsar la síntesis de hidratos de carbono a partir de CO_2. La estructura de los cloroplastos (Fig. 2-26) es semejante en varios aspectos a la de las mitocondrias. Por ejemplo, la membrana externa es muy permeable, mientras que la membrana interna, relativamente impermeable, contiene proteínas transportadoras especiales que controlan el tráfico molecular hacia dentro y hacia fuera del orgánulo.

Un sistema de membranas internas muy complejo, que se denomina **membrana tilacoide**, es responsable de la función metabólica de los cloroplastos. Por ejemplo, las moléculas de clorofila, que captan la energía luminosa durante la fotosíntesis, están unidas a proteínas de la membrana tilacoide. Determinadas porciones de la membrana tilacoide forman estructuras muy apiladas denominadas **grana** (singular: granum), mientras que la membrana completa encierra un compartimiento conocido como *lumen* (o canal) *tilacoide*. Rodeando a la membrana tilacoide hay una sustancia densa con muchas enzimas, análoga a la matriz mitocondrial, denominada **estroma**. Además de las enzimas, el estroma contiene DNA, RNA y ribosomas. Los segmentos de membrana que conectan los grana adyacentes se denominan *lamelas del estroma*.

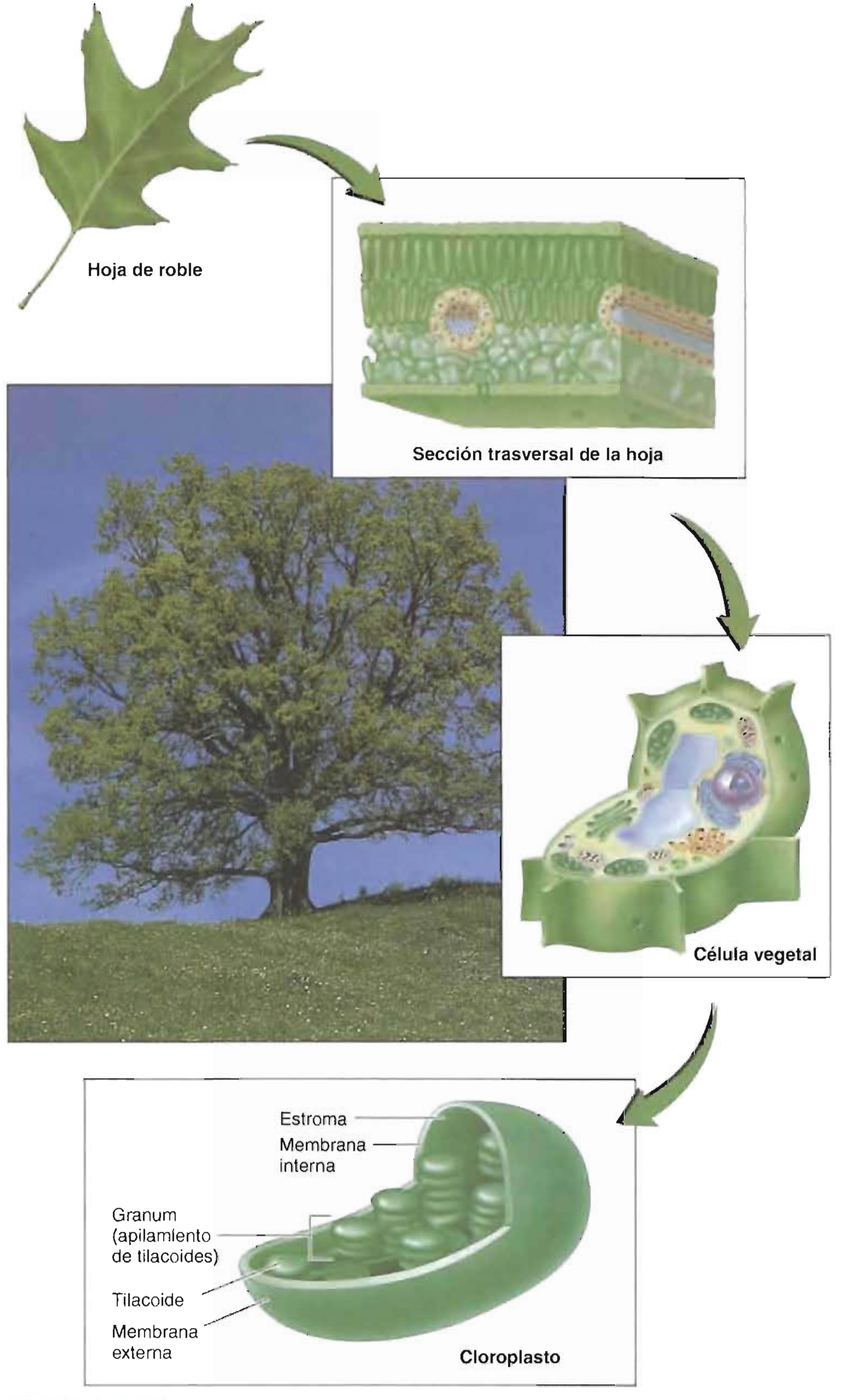


FIGURA 2-26

Cloroplasto

Los cloroplastos son un tipo de orgánulo que se encuentra en los vegetales multicelulares.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 2.1. Endosimbiosis

El origen evolutivo de algunos orgánulos eucariotas ha sido durante mucho tiempo de gran interés para los científicos. En su libro *Origen de las células eucariotas*, publicado en 1970, Lynn Margulis utiliza el concepto de simbiosis para explicar este importante problema biológico sin resolver. La **simbiosis**, definida como la vida conjunta de dos organismos diferentes en una relación íntima, es un fenómeno biológico corriente. Estas asociaciones varían desde el parasitismo, en el que un organismo obtiene beneficio a expensas de otro, al mutualismo, en el que ambos organismos se benefician. Un ejemplo de la primera es el ser humano y los tripanosomas, los protozoos que producen la enfermedad del sueño africana. La relación entre los seres humanos y la bacteria intestinal *Lactobacillus acidophilus* es un ejemplo de la segunda. Diversas especies de *Lactobacillus*, que se obtienen del consumo de los productos lácteos fermentados, intercambian protección, calor y nutrición para los seres humanos mediante varios efectos beneficiosos, entre los que se encuentran protección frente a microorganismos patógenos como *Clostridium difficile*, disminución del colesterol sérico y, quizá, algunos efectos antitumorales.

Margulis propuso que las mitocondrias y los cloroplastos, así como los cilios y los flagelos, evolucionaron a partir de las células procarióticas. De acuerdo con la *hipótesis endosimbiótica*, las células eucariotas comenzaron como organismos anaerobios grandes. (El término *anaerobio* indica que no se utiliza el oxígeno para generar energía.) Las mitocondrias surgieron cuando las células más grandes ingirieron pequeñas bacterias aerobias (que utilizan oxígeno). Como intercambio por los beneficios como la protección y el suministro constante de nutrientes, las células más pequeñas proporcionaron a sus hospedadores la energía generada por un proceso conocido como *respiración aerobia*. Al pasar el tiempo, las bacterias perdieron su independencia debido a la transferencia de varios genes (unidades genéticas de codificación) al núcleo de la célula hospedadora. De manera análoga, los cloroplastos se cree que descienden de células semejantes a las cianobacterias actuales, mientras que los cilios y los flagelos derivan de procariotas espirales antiguos.

La hipótesis endosimbiótica está apoyada por una cantidad considerable de pruebas indirectas.



FIGURA 2A
Replicación de una mitocondria por fisión binaria

1. Las mitocondrias y los cloroplastos son de un tamaño semejante a muchos procariotas actuales.
2. Estos dos orgánulos se reproducen por fisión binaria, como lo hacen las bacterias y las arqueas (Figura 2A).
3. La información genética (DNA) y la capacidad de síntesis de proteínas de las mitocondrias y los cloroplastos son semejantes a las de los procariotas. Por ejemplo, el DNA de las mitocondrias y los cloroplastos es circular y «desnudo» (p. ej., no forma complejos con proteínas histonas como lo hace el DNA). (Existe información genética insuficiente en estos cromosomas para explicar todos los componentes del orgánulo; sin embargo, los genes nucleares que son responsables de la síntesis de componentes mitocondriales se parecen a los genes procariotas.)

PREGUNTA 2.3	*Cyanophora paradoxa* es un organismo eucariota que incorpora en sus células cianobacterias, organismos procariotas fotosintetizadores aerobios. Describa los beneficios que obtienen ambas especies de esta relación.

Citoesqueleto

El citoplasma se pensaba que era una disolución desestructurada en la que el núcleo estaba suspendido. La experimentación ha descubierto no sólo los grandes sistemas de membranas y los orgánulos membranosos que se han descrito, sino también una compleja red de soporte de fibras y filamentos proteináceos denominada **citoesqueleto** (Fig. 2-27). Los componentes del citoesqueleto son los **microtúbulos**, los **microfilamentos** y las **fibras intermedias**.

Los microtúbulos (diámetro = 25 nm), formados por la proteína tubulina, son los constituyentes más grandes del citoesqueleto. Aunque se encuentran en muchas re-

4. Los ribosomas de las mitocondrias y los cloroplastos son de tamaño y función similares a los de los procariotas. Por ejemplo, los fármacos como el antibiótico cloranfenicol, que destruyen determinadas bacterias al inhibir las actividades de síntesis de proteínas de los ribosomas, también inhiben la función de los ribosomas de las mitocondrias y los cloroplastos.
5. Se han encontrado pequeñas cantidades del otro ácido nucleico, el RNA, en los cuerpos basales de los cilios y los flagelos. Algunos investigadores consideran que esta prueba apoya la idea de que estas estructuras eucariotas surgieron por una unión simbiótica.
6. Muchos organismos actuales contienen bacterias, cianobacterias o algas intracelulares simbióticas; es decir, estas asociaciones no son difíciles de establecer. Por ejemplo, un animal primitivo de agua dulce denominado *Chlorohydra* debe su color verde a algas endosimbióticas. La nutrición de la hidra se complementa con la actividad fotosintetizadora de las algas.

El la Figura 2B se ilustra la hipótesis endosimbiótica.

FIGURA 2B

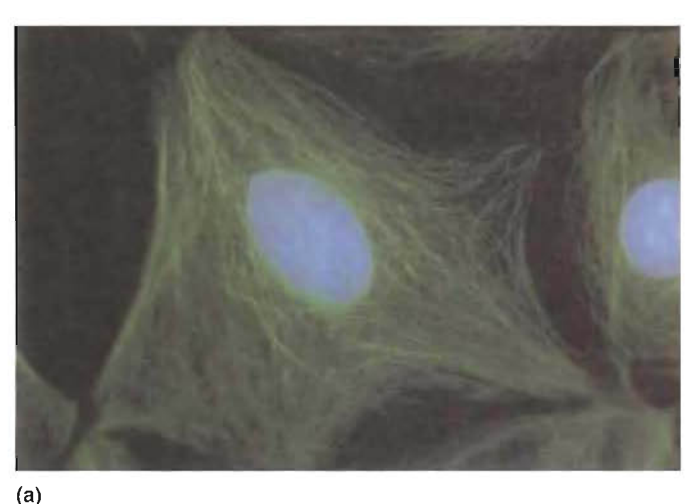
Hipótesis endosimbiótica

Se piensa que los primeros eucariotas evolucionaron hace al menos 1500 millones de años. La transición desde los antiguos procariotas a la estructura de las células eucariotas es probablemente la más importante de la evolución, excepto el propio origen de la vida. La hipótesis endosimbiótica supone una visión interesante y precisa de esta transición.

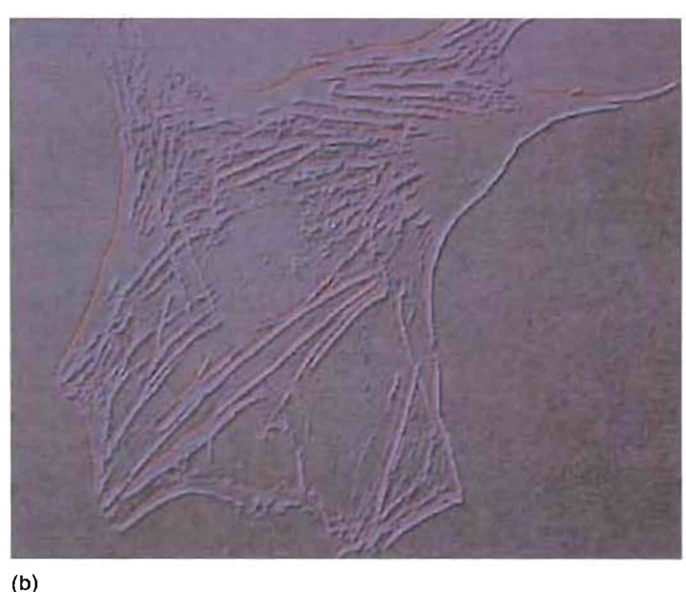
giones celulares, los microtúbulos se destacan en las estructuras largas y finas que requieren sustento (p. ej., los axones y las dendritas alargados de las fibras nerviosas). Se encuentran también en el *huso mitótico* (la estructura que se forma en las células que se dividen y que es responsable de la dispersión igualada de los cromosomas en las células hijas) y los orgánulos pilosos de la locomoción, que se conocen como cilios y flagelos (Fig. 2-28).

Los microfilamentos, que son fibras pequeñas (5-7 nm de diámetro) formadas por la proteína *actina*, realizan sus funciones interaccionando con determinadas proteínas de entrecruzamiento. Entre las funciones importantes de los microfilamentos se encuentran el oleaje citoplásmico (un proceso que se observa principalmente en las células vegetales en las que las corrientes citoplásmicas desplazan rápidamente los orgánulos como los cloroplastos) y el movimiento ameboide (una clase de locomoción creada por la formación de protuberancias citoplásmicas temporales).

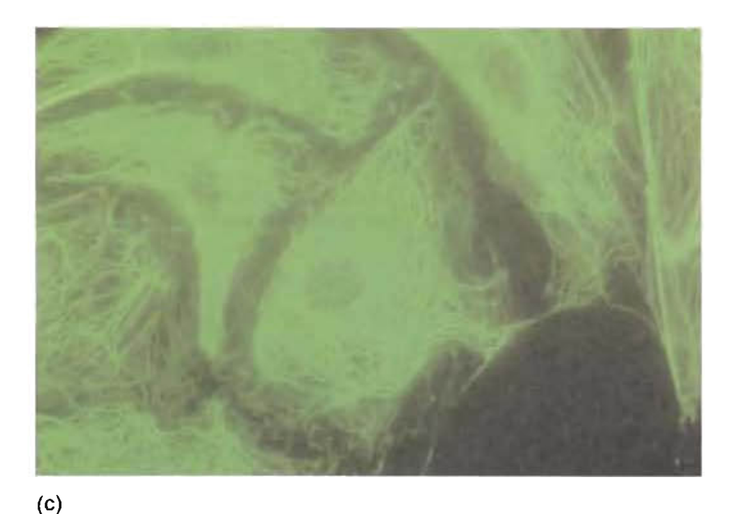
Las fibras intermedias (10 nm de diámetro) son estructuras proteináceas de composición heterogénea. A pesar de su variación, su organización estructural es semejante en muchas clases celulares. Implicadas principalmente en el mantenimiento



(a)



(b)



(c)

FIGURA 2-27

Citoesqueleto

Los componentes principales del citoesqueleto son los microtúbulos (a), los microfilamentos (b) y los filamentos intermedios (c). La distribución intracelular de cada clase de componente del citoesqueleto se observa mediante la tinción con colorantes fluorescentes.

de la forma celular, las fibras intermedias son especialmente destacadas en las células que están sometidas a una agresión mecánica. Por ejemplo, un tipo, conocido como *filamentos de queratina*, se encuentra en las capas más externas de la piel.

Esta red muy desarrollada del citoesqueleto contribuye a los procesos vivos de varias formas:

1. **Mantenimiento de la forma global de la célula**. Las células eucariotas adoptan una gran variedad de formas, entre las cuales están la ameba en gota, las células epiteliales de la columna y las neuronas con arquitectura ramificada compleja.
2. **Facilitación de un movimiento celular coherente**. El movimiento celular a gran escala, como el oleaje citoplásmico que tiene lugar en las células vegetales y el movimiento ameboide que se observa en las células animales, es posible gracias a un citoesqueleto dinámico que puede montar y desmontar rápidamente sus elementos estructurales de acuerdo con las necesidades inmediatas de la célula.
3. **Provisión de una estructura de soporte que guía el movimiento de los orgánulos dentro de la célula**. Los orgánulos se mueven dentro de la célula al unirse a las estructuras del citoesqueleto. Por ejemplo, tras la división celu-

CONCEPTOS CLAVE 2.12

El citoesqueleto, una red muy estructurada de filamentos proteináceos, es responsable del mantenimiento de la forma celular global y de facilitar los movimientos de la célula. Los componentes del citoesqueleto son los microtúbulos, los microfilamentos y las fibras intermedias.

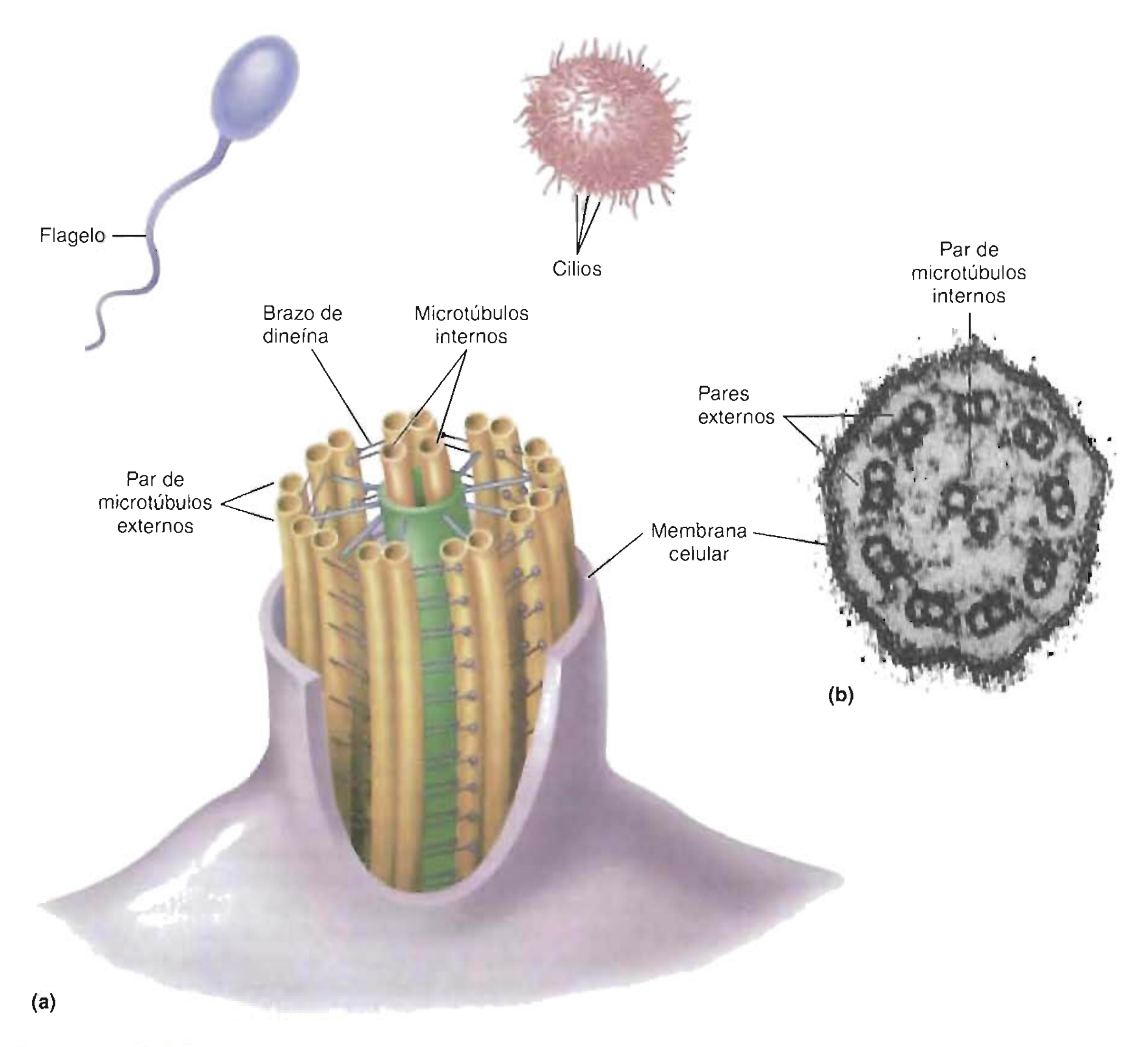


FIGURA 2-28

Cilios y flagelos

(a) Los microtúbulos de las células eucariotas están colocados en el patrón clásico 9+2. Dos microtúbulos centrales están rodeados por un anillo externo de nueve pares de microtúbulos. (b) Fotografía de transmisión electrónica de un corte transversal de un flagelo.

lar, la extensión de la membrana del retículo endoplásmico desde la membrana nuclear recién formada hasta el exterior de la periferia celular y la nueva formación del complejo de Golgi se producen por la unión a los microtúbulos. El movimiento es fruto de los cambios conformacionales dependientes de ATP que experimentan proteínas motoras específicas ligadas a los microtúbulos y a la carga de la membrana.

Sin remitirse a este capítulo, ¿puede dibujar esquemas de una célula procariota y una célula eucariota y señalar cada uno de los componentes estructurales? Describa la función de cada estructura en una frase. **PREGUNTA 2.4**

El origen de la vida

La Tierra se formó a partir de una nube de polvo cósmico condensado y gas hace alrededor de 4500 millones de años. La vida surgió inmediatamente después. Las pruebas fósiles en forma de estromatolitos (capas comprimidas de restos bacterianos) indican que los primeros organismos existieron al menos hace 3600 millones de años. Aunque los análisis de las pruebas geológicas, biológicas y químicas han permitido a los científicos obtener lentamente una visión general de la historia de la vida, los mecanismos precisos mediante los cuales se originó la vida son aún objeto de una especulación considerable. En los estudios sobre el origen de la vida se han utilizado dos estrategias básicas: la «arriba-abajo» y la «abajo-arriba». En la estrategia arriba-abajo, se ha trazado a través del tiempo la historia filogenética (evolutiva) de los organismos actuales mediante análisis filogenéticos, es decir, la investigación de las semejanzas y diferencias entre los organismos, que proporcionan indicios de su pasado evolutivo. En la estrategia abajo-arriba, los investigadores se han centrado en la reconstrucción de los mecanismos por medio de los cuales la materia inanimada se transformó en la primitiva Tierra en el primer organismo vivo primitivo, un proceso denominado **abiogénesis**. Los investigadores de la abiogénesis se dedican especialmente a determinar las condiciones físicas y químicas que facilitaron el origen de la vida. También analizan las biomoléculas en las especies actuales que se consideran son vestigios del mundo prebiótico. Ambas estrategias han proporcionado una información valiosa. Los análisis filogenéticos se describen en el Recuadro de interés especial 17.2. A continuación se esbozan las perspectivas actuales de la abiogénesis.

Abiogénesis

Actualmente, uno de los problemas más sorprendentes en los estudios sobre el origen de la vida es proporcionar una explicación verosímil de la abiogénesis: ¿Cómo surgieron los primeros seres vivos a partir de la materia inanimada en las condiciones físicas y químicas que existían durante los primeros tiempos de la Tierra? En otras palabras, durante este período primordial, ¿cómo se transformaron las moléculas sin vida en las formas de vida primitivas, pero con una gran cantidad de información y autoorganizadas? Dado que los sucesos por los que surgió la vida no pueden reproducirse en el laboratorio, los mecanismos de la abiogénesis son aún especulativos. Entre los temas más esenciales que deben tenerse en cuenta en la investigación sobre la abiogénesis están:

1. ¿Cómo se formaron originalmente las moléculas orgánicas simples (p. ej., azúcares, aminoácidos y nucleótidos)?
2. ¿Cómo se unieron estas moléculas orgánicas primordiales para formar macromoléculas con información abundante, como las proteínas y los ácidos nucleicos?
3. ¿Cómo se originaron las primeras células?

No hay aún respuestas convincentes a estas preguntas. Al investigar los científicos el enigma del origen de la vida, se han lanzado varias hipótesis fascinantes. Entre las suposiciones sobre las que se basan estas explicaciones de la abiogénesis se encuentran las siguientes:

1. Las primeras formas de vida fueron muy sencillas en sus capacidades estructurales y funcionales, si se comparan con los organismos actuales.
2. El requerimiento básico de cualquier forma de vida es la presencia de una o varias moléculas que sean capaces de autoduplicarse utilizando la materia prima de su entorno.

Las características esenciales de la mayoría de las perspectivas modernas de la abiogénesis (Fig. 2C) son una primera fase en la que se formaron las moléculas orgánicas. Durante una fase posterior, se supone que las primitivas estructuras semejantes a las células, denominadas *protocélulas*, rodeadas por moléculas lipídicas precursoras poseían una mayor diversidad de moléculas orgánicas. Dentro de los confines de las protocélulas, determinadas moléculas monoméricas polimerizaron para formar polipéptidos y ácidos nucleicos.

Las investigaciones científicas sobre el mecanismo de la abiogénesis comenzaron con Charles Darwin, que sugirió que la vida podría haber surgido en una «pequeña charca cálida» que, supuso, contenía amoníaco, fosfato y otras moléculas. Durante mucho tiempo, en presencia de fuentes energéticas como la luz y los rayos, estas moléculas podrían haber dado lugar, finalmente, al ser vivo. A comienzos del siglo XX, J. B. S. Haldane (1892-1964) presentó el término *sopa primordial*. Él y otros científicos supusieron que la vida surgió en un agua oceánica caliente en la que se encontraban diversas clases de moléculas inorgánicas y orgánicas formadas en las erupciones volcánicas y los asteroides recién llegados del espacio exterior. En 1924 Alexandr Oparin (1894-1980) propuso que la atmósfera en la primitiva Tierra era significativamente diferente de la actual. Según su perspectiva, la atmósfera primitiva de la Tierra constaba en gran medida de hidrógeno, metano, amoníaco y vapor de agua, pero no tenía oxígeno. En otras palabras, esta atmósfera primitiva era una atmósfera reductora. En la atmósfera oxidante actual, con su contenido relativamente elevado de oxígeno, las moléculas orgánicas no se ligan espontáneamente para formar polímeros, sino que ocurre lo contrario, es decir, estas moléculas se degradan para formar moléculas inorgánicas. Oparin también centró su atención en la formación de las primeras células. Observó que cuando se mezclan moléculas hidrófobas y agua, se forman vesículas que atrapan en su interior otras moléculas. Para que se formaran las protocélulas de esta forma, la «membrana» vesicular debía haber sido capaz de evitar que las moléculas vitales escaparan, mientras que debía permitir que entrara la materia prima.

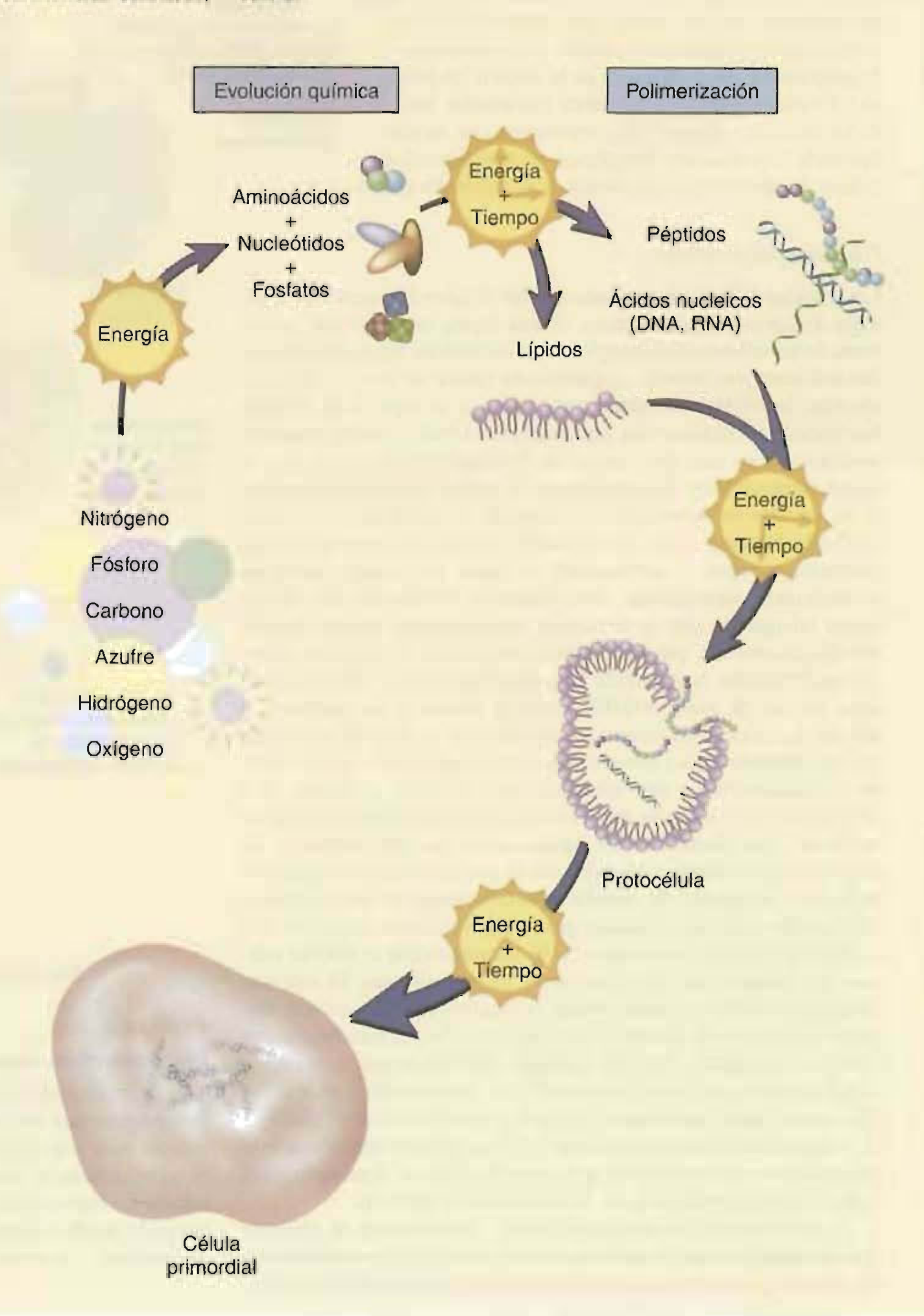
Décadas posteriores, Harold Urey (1893-1981), un químico americano, se dio cuenta de que algunas de las suposiciones de Oparin y Haldane podían analizarse en condiciones de laboratorio. En 1953, Urey y el estudiante de posgrado Stanley Miller (1930-) sometieron una mezcla de amoníaco, metano, gas hidrógeno y agua a condiciones que se presumía eran las de la Tierra hace 4000 millones de años. La mezcla se colocó en un contenedor en un sistema cerrado y se calentó y agitó durante varios días. La energía se administró en forma de destellos eléctricos. El análisis del residuo terroso resultante descubrió la presencia de aminoácidos alanina y glicina, y cantidades menores de otras moléculas orgánicas. Considerado como un hallazgo notorio en su tiempo, el experimento de Urey-Miller ha sido criticado recientemente por varias razones. En primer lugar, parece en el momento actual que la primera atmósfera de la Tierra contenía principalmente dióxido de carbono, nitrógeno, y cantidades muy pequeñas de hidrógeno y muy poco metano. Sin metano el experimento de Urey-Miller sólo produce glicina. Un problema igualmente serio es el fracaso de esta metodología para producir nucleótidos, los bloques de construcción de los ácidos nucleicos.

En años recientes, varios científicos han proporcionado conocimientos sobre los posibles mecanismos de formación de las macromoléculas. El tema principal de esta fase de los orígenes de la vida está relacionado con la interdependencia del DNA y las proteínas en los organismos actuales. En otras palabras, qué fue primero, las molé-

culas de DNA que contienen la información que codifica a las proteínas, o las proteínas, de las que se requieren varias para duplicar y transcribir el DNA. La hipótesis más importante que considera esta paradoja es el *concepto del RNA universal*. De acuerdo con esta idea, ni el DNA ni las proteínas fueron las primeras macromoléculas portadoras de la información en la vida primitiva, sino que fue el RNA. Este concepto descansa en la evidencia relacionada con las propiedades funcionales del RNA, que no sólo posee la información genética, sino que también puede comportarse como una enzima. Por ejemplo, pruebas experimentales y estructurales recientes han demostrado de forma concluyente que la formación de los enlaces peptídicos durante la síntesis de proteínas está catalizada por un RNA componente de los ribosomas. Además, en determinadas circunstancias celulares, las moléculas de DNA pudieron sintetizarse a partir de una molécula de RNA en un proceso en el que participa una enzima denominada *transcriptasa inversa*. En un escenario hipotético, fragmentos cortos de RNA pueden haber codificado originalmente pequeños péptidos. Al final, al irse haciendo las protocélulas formas de información genética cada vez más complejas y más estables que proporcionaron una ventaja selectiva, una transcriptasa inversa comenzó a copiar secuencias de RNA en DNA. Finalmente, este proceso dio lugar a las funciones de las principales macromoléculas de la información en todos los organismos modernos: el DNA, el proyecto genético; las proteínas, los dispositivos que realizan las tareas de los procesos vivos; y el RNA, el portador de la información utilizada para fabricar las proteínas.

FIGURA 2C

Escenario hipotético de la abiogénesis. Durante las primeras fases probables del origen de la vida, la energía en forma de luz, relámpagos y calor estimuló la formación de moléculas orgánicas a partir de precursores inorgánicos. Posteriormente, determinadas moléculas polimerizaron para formar polipéptidos y los ácidos nucleicos DNA y RNA. Una vez que estas macromoléculas quedaron encerradas dentro de una barrera semejante a una membrana, su evolución se produjo con el tiempo.



Tecnología celular

Durante los últimos 50 años, nuestro conocimiento sobre el funcionamiento de los seres vivos ha experimentado una revolución. La mayor parte del conocimiento actual de los procesos bioquímicos se debe directamente a las innovaciones tecnológicas. Por ejemplo, el diseño del microscopio electrónico (ME) como instrumento biológico por Keith Porter y sus colegas en los años 1940 fue responsable de la resolución de la estructura fina de los orgánulos. Estructuras como las mitocondrias y los lisosomas no se descubrieron hasta ese momento; en el microscopio óptico aparecían como meros gránulos. El microscopio electrónico descubrió también que las membranas del aparato de Golgi suelen ser continuas con las del RE. Este descubrimiento es especialmente significativo debido a la función que desempeñan ambos orgánulos en la síntesis de proteínas. En este recuadro se describen brevemente tres de las técnicas celulares más importantes que se utilizan en la investigación bioquímica: el fraccionamiento celular, la microscopía electrónica y la autorradiografía.

Fraccionamiento celular

Las técnicas de **fraccionamiento celular** (Figura 2D) permiten el estudio de los orgánulos celulares de una forma relativamente intacta fuera de las células. Por ejemplo, las mitocondrias funcionantes pueden utilizarse para estudiar la generación celular de energía. En estas técnicas, las células se rompen suavemente y se separan en diversas fracciones que contienen los orgánulos. Las células pueden romperse mediante varios métodos, aunque la homogeneización es el que se utiliza habitualmente. En este proceso se coloca una suspensión celular en un tubo de vidrio que lleva ajustado un pistón de vidrio especialmente diseñado o en un triturador eléctrico. El homogeneizado resultante se separa a continuación en varias fracciones durante un procedimiento denominado **centrifugación diferencial**. Un instrumento refrigerado que se denomina *ultracentrífuga* genera fuerzas centrífugas enormes que separan los componentes celulares de acuerdo con el tamaño, la superficie y la densidad relativa. (Pueden generarse fuerzas de hasta 500 000 veces la fuerza de la gravedad, o 500 000 g, en tubos de ensayo irrompibles que se colocan en el rotor de una ultracentrífuga.) Inicialmente, el homogeneizado se hace girar en la ultracentrífuga a una velocidad baja (700-1000 g) durante 10 a 20 minutos. Las partículas más pesadas, como los núcleos, forman un sedimento. Las partículas más ligeras, como las mitocondrias o los lisosomas, permanecen suspendidas en el *sobrenadante*, el líquido por encima del sedimento. Se transfiere posteriormente el sobrenadante a otro tubo de centrífuga y se hace girar a una velocidad mayor (15 000 a 20 000 g) durante 10-20 minutos. El sedimento que se obtiene contiene las mitocondrias, los lisosomas y los peroxisomas. El sobrenadante que contiene los **microsomas** (vesículas pequeñas cerradas formadas a partir del RE durante la homogeneización), se transfiere a otro tubo y se hace girar a 100 000 g durante 60-120 minutos. Los microsomas se depositan en el sedimento y el sobrenadante contiene los ribosomas, varias membranas celulares y gránulos como el glucógeno, un polímero de hidratos de carbono. Tras volver a centrifugar este último sobrenadante a 200 000 g durante 2 a 3 horas, se recuperan del sedimento los ribosomas y las macromoléculas grandes.

Con frecuencia, las fracciones de los orgánulos que se obtienen con esta técnica no son lo suficientemente puras para la investigación. Un método que suele utilizarse para purificar más las fracciones celu-

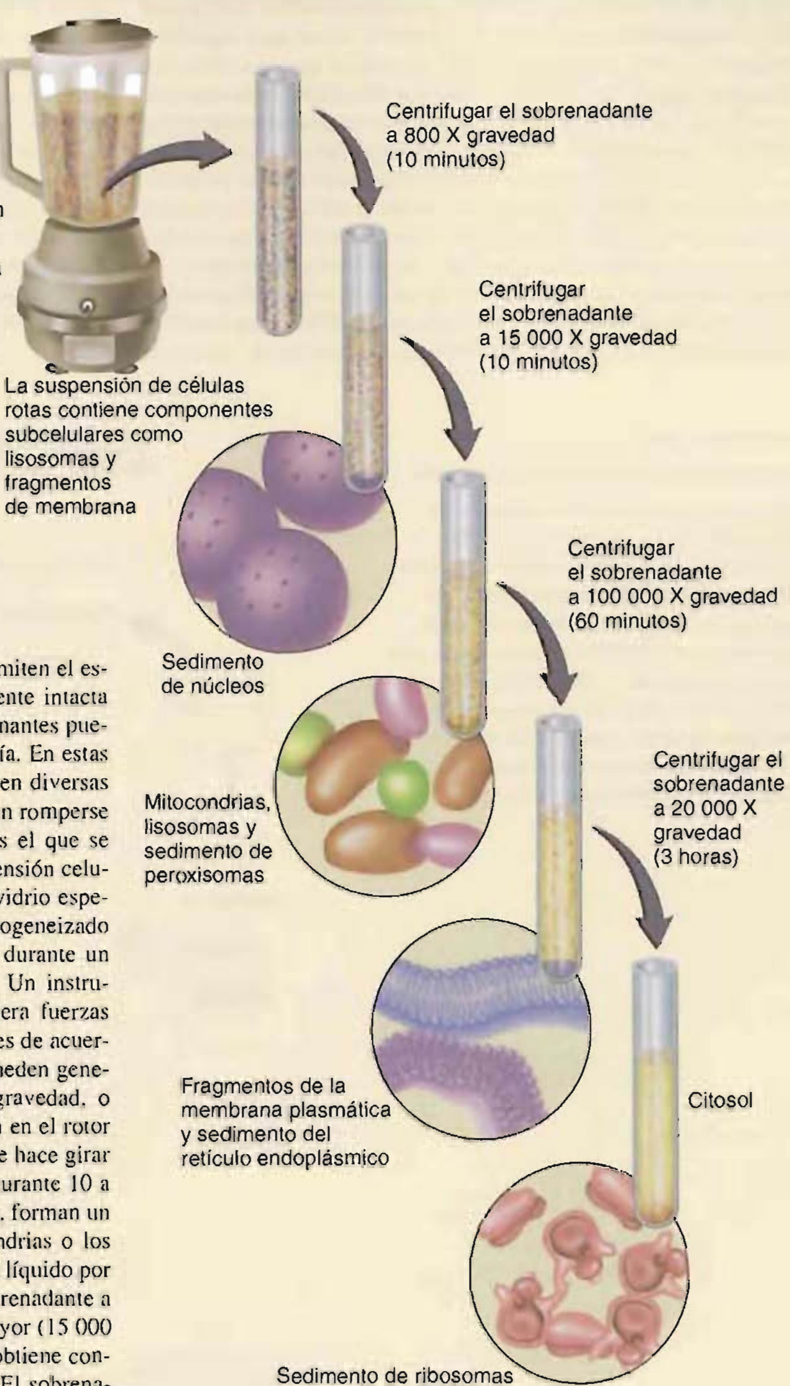


FIGURA 2D

Fraccionamiento celular.

Tras la homogeneización de las células en un triturador, se separan los componentes celulares en una serie de centrifugaciones a velocidades cada vez mayores. Al finalizar cada centrifugación, se separa el sobrenadante, se coloca en un tubo nuevo de centrífuga y se somete de nuevo a una fuerza centrífuga mayor. El sedimento recogido puede resuspenderse en un líquido y observarse por microscopía o pruebas bioquímicas.

lares es la **centrifngación en gradiente de densidad** (Figura 2E). En este procedimiento se deposita la fracción de interés en la parte superior de un tubo de centrífuga que contiene una solución formada por una sustancia densa como la sacarosa. (En un tubo de este tipo la concentración de la sacarosa aumenta desde la parte superior a la inferior del tubo.) Durante la centrifugación a velocidad elevada durante varias horas, las partículas se mueven hacia abajo en el gradiente hasta que alcanzan un nivel que tiene una densidad igual a la propia. Se recogen entonces los componente celulares pinchando el tubo de centrífuga de plástico y recogiendo gotas del fondo. La pureza de las fracciones individuales puede valorarse mediante inspección visual utilizando el microscopio electrónico. Sin embargo, se emplean más frecuentemente los análisis de **enzimas marcadoras** (enzimas que se sabe están presentes en concentraciones especialmente elevadas en orgánulos específicos). Por ejemplo, la glucosa-6-fosfatasa, la enzima responsable de la conversión en el hígado de la glucosa-6-fosfato en glucosa, es un marcador de los microsomas hepáticos. Asimismo, la DNA polimerasa, que participa en la síntesis de DNA, es un marcador de los núcleos.

Microscopía electrónica

El microscopio electrónico (ME) permite observar la ultraestructura de la célula que no es posible hacer con el microscopio óptico más habitual. Se han obtenido con el ME amplificaciones de hasta 1 000 000×. Las microfotografías pueden agrandarse de forma fotográfica hasta 10 000 000×. De forma diferente, el microscopio óptico amplifica una imagen hasta alrededor de 1000×. Esta diferencia se debe al mayor poder de resolución del ME. El **límite de resolución**, que se define como la distancia mínima entre dos puntos que permite discriminarlos como dos puntos separados, es de 0.2 μm utilizando el microscopio óptico. El menor poder de resolución del microscopio óptico está relacionado con la longitud de onda de la luz visible. En general, las longitudes de onda más cortas permiten mayor resolución. El ME utiliza una corriente de electrones en lugar de luz para iluminar los especímenes. Debido a que esta corriente de electrones tiene una longitud de onda mucho más corta que la de la luz visible, pueden obtenerse imágenes más detalladas.

Existen dos tipos de ME: el microscopio electrónico de transmisión (MET) y el microscopio electrónico de barrido (MEB). Igual que el microscopio óptico, el MET se utiliza para observar especímenes finos. Dado que la imagen en el MET depende de las variaciones de la absorción de los electrones por el espécimen, en lugar de las variaciones de la absorción de luz, para aumentar el contraste entre los componentes celulares se utilizan metales pesados como el osmio o el uranio. El MEB se utiliza para obtener imágenes tridimensionales de la estructura celular. A diferencia del MET, que utiliza los electrones que han pasado a través de un espécimen para formar una imagen, el MEB utiliza los electrones que son emitidos por la superficie del espécimen. Éste se recubre con una capa fina de un metal pesado y luego se barre con una corriente estrecha de electrones. Los electrones emitidos por la superficie del espécimen, que se denominan *electrones secundarios*, forman una imagen en una pantalla de televisión. Aunque sólo pueden observarse con el MEB características de la superficie, esta forma de microscopía proporciona una información muy útil sobre la estructura y la función celulares.

Autorradiografía

La autorradiografía se utiliza para estudiar la localización intracelular y el comportamiento de los componentes celulares. Ha sido una herramienta muy valiosa en Bioquímica. Por ejemplo, se ha utilizado para determinar los lugares precisos de la síntesis de DNA, RNA y proteínas dentro de las células eucariotas. En este procedimiento, las células se exponen a moléculas precursoras marcadas radiactivamente. El isótopo que más se emplea es el tritio (^{3}H). Por ejemplo, el nucleótido timidina tritiado se utiliza para estudiar la síntesis de DNA, debido a que la timidina sólo se incorpora a las moléculas de DNA. Tras la exposición al precursor radiactivo, se procesan las células para observarlas mediante microscopía óptica y electrónica. Los portaobjetos se sumergen en una emulsión fotográfica. Tras almacenarlos en la oscuridad, se revela la emulsión mediante técnicas fotográficas estándar. La localización de las moléculas marcadas radiactivamente viene indicada por el patrón producido por los granos de plata.

FIGURA 2E

Centrifugación en gradiente de densidad.

La muestra se deposita suavemente sobre la parte superior de un gradiente previamente formado de una sustancia inerte como la sacarosa. Al aplicarse la fuerza centrífuga, las partículas de la muestra migran a través de las bandas de gradiente de acuerdo con sus densidades. Tras la centrifugación, se pincha el fondo del tubo y se recogen las bandas individuales en tubos separados.

RESUMEN

1. Las células son las unidades estructurales de todos los seres vivos. Dentro de cada célula hay centenares de millones de biomoléculas densamente empaquetadas. La investigación bioquímica ha logrado penetrar en el conocimiento de su estructura y comportamiento funcional. Entre las más significativas se encuentran las siguientes: las propiedades químicas y físicas singulares del agua, el disolvente biológico, son un factor determinante crucial del comportamiento de las demás biomoléculas. Las membranas biológicas son estructuras laminares, finas, flexibles y relativamente estables que encierran a las células y a los orgánulos. Están formadas por biomoléculas, como los fosfolípidos y las proteínas, que constituyen una barrera física selectiva. Las membranas también sirven como una superficie químicamente reactiva que está integrada en todos los procesos vivos dentro de un organismo. El automontaje de las estructuras supramoleculares se produce dentro de las células debido a la información estérica codificada en las formas enrevesadas de las biomoléculas, lo cual permite numerosas interacciones débiles no covalentes entre superficies complementarias. Muchos de los complejos con varias subunidades que participan en los procesos celulares se sabe en la actualidad que operan como máquinas moleculares; es decir, son dispositivos mecánicos formados por partes móviles que convierten la energía en movimiento directo.
2. Existen dos clases de células que se encuentran en todos los organismos que existen en la actualidad: procariotas y eucariotas. Las procariotas son más sencillas que las eucariotas. Tienen también una gran diversidad bioquímica en las diferentes especies, dado que casi cualquier molécula orgánica puede utilizarse como fuente de alimento por algunas especies de procariotas. A diferencia de los procariotas, los eucariotas llevan a cabo sus funciones metabólicas en compartimientos rodeados por membranas denominados orgánulos.
3. Aunque las células procariotas carecen de núcleo, tienen una molécula de DNA circular denominada cromosoma situada en una región de forma irregular denominada nucleoide. Muchas bacterias contienen otras moléculas pequeñas de DNA circular denominadas plásmidos. Los plásmidos pueden transportar genes para proteínas con funciones especiales que proporcionan protección, especialización metabólica o ventajas reproductoras para el organismo. El núcleo de los eucariotas contiene DNA, la información genética de la célula. El RNA ribosómico se sintetiza en el nucléolo, que se encuentra dentro del núcleo.
4. La membrana plasmática de los procariotas y los eucariotas realiza varias funciones vitales, de las que la más importante es el transporte molecular controlado, que está facilitado por proteínas transportadoras y canales.
5. El retículo endoplásmico (RE) es un sistema de túbulos, membranas y grandes sacos aplastados interconectados que se encuentra en las células eucariotas. Existen dos formas de RE. El RE rugoso, que participa principalmente en la síntesis de proteínas, se denomina así por los numerosos ribosomas que tachonan su superficie citoplásmica. La segunda forma carece de ribosomas unidos y se denomina RE liso. Las funciones del RE liso son la síntesis de lípidos y la biotransformación.
6. Los ribosomas citoplásmicos de los eucariotas son orgánulos relativamente pequeños que sintetizan las proteínas. Los ribosomas son estructuras complejas formadas por varias proteínas y una clase de RNA denominada RNA ribosómico.
7. El aparato de Golgi, que está formado por vesículas membranosas relativamente grandes, aplastadas y en forma de saco que se asemeja a un apilamiento de platos, participa en el empaquetamiento y secreción de los productos celulares.
8. Los lisosomas son orgánulos en forma de saco que actúan en la digestión intracelular y extracelular. Contienen enzimas digestivas que pueden degradar la mayoría de las biomoléculas.
9. Los peroxisomas son pequeños orgánulos membranosos esféricos que contienen varias enzimas oxidativas. Estos orgánulos son notorios por su participación en la generación y degradación de los peróxidos.
10. La respiración aerobia, un proceso por medio del cual las células utilizan el O_2 para generar energía, tiene lugar en las mitocondrias. Cada mitocondria está rodeada por dos membranas. La membrana externa lisa es permeable a la mayoría de las moléculas con masas menores de 10 000 D. La membrana interna, que es impermeable a los iones y a diversas moléculas orgánicas, se proyecta hacia dentro en pliegues denominados crestas. Integradas en esta membrana hay estructuras denominadas ensamblajes respiratorios que son responsables de la síntesis de ATP.
11. Los plásmidos, estructuras que se encuentran sólo en las plantas, las algas y algunos protistas, están rodeados por una membrana doble. También se encuentra presente a veces una membrana interna separada muy enrevesada. Los cromoplastos acumulan los pigmentos que son responsables del color de las hojas, los pétalos de las flores y las frutas. Los cloroplastos son un tipo de cromoplastos que están especializados en la conversión de la energía luminosa en energía química.
12. El citoesqueleto, una red de soporte formada por fibras y filamentos, participa en el mantenimiento de la forma celular, facilita el movimiento celular y el transporte intracelular de los orgánulos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P., *Essential Cell Biology: An Introduction to the Molecular Biology of the Cell*, Garland, New York, 1998.

Becker, E. M., Kleinsmith, L. J., and Hardin, J., *The World of the Cell*, 4.ª ed., Benjamin Cummings, New York, 2000.

Davis, P., *The Fifth Miracle: The Search for the Origin and Meaning of Life*, Simon and Schuster, New York, 1999.

deDuve, C., The Birth of Complex Cells, *Scientific American* 274(4):50-57, 1996.

Goodsell, D. S., *Our Molecular Nature: The Body's Motors Machines and Messages*, Springer-Verlag, New York, 1996.

Goodsell, D. S., *The Machinery of Life*, Springer-Verlag, New York, 1998.

Margulis, L., *What is Life?* University of California Press, Berkeley, 2000.

Margulis, L., and Sagan, D., *Microcosmos: Four Billion Years Evolution from Our Microbial Ancestors*, Univerrity of California Press, Berkeley, 1997.

PALABRAS CLAVE

abiogénesis, *58*
aparato de Golgi (complejo de Golgi), *45*
biotransformación, *44*
centrifugación diferencial, *60*
centrifugación en gradiente de densidad, *60*
citoesqueleto, *54*
cloroplasto, *52*
cromoplasto, *52*
cromosoma, *37*
dictiosoma, *45*
envoltura nuclear, *42*
enzima marcadora, *61*
estroma, *52*
exocitosis, *46*
fibra de cromatina, *42*
fibra intermedia, *54*
fotosíntesis, *36, 52*
fraccionamiento celular, *60*
glioxisoma, *50*
glucocáliz, *40*
granum, *52*
hidrófilo, *30*
hidrófobo, *31*
límite de resolución, *61*
lisosoma, *47*
matriz extracelular, *42*
membrana externa, *50*
membrana interna, *50*
membrana plasmática, *36*
membrana tilacoide, *52*
metabolismo aerobio, *50*
microfilamento, *54*
microsoma, *60*
microtúbulo, *54*
mitocondria, *50*
núcleo, *42*
nucleoide, *37*
nucléolo, *43*
nucleoplasma, *42*
peroxisoma, *49*
plásmido, *37*
plástido, *51*
poro nuclear, *42*
proteína motora, *33*
RE liso (REL), *44*
RE rugoso (RER), *44*
receptor, *41*
respiración, *36*
retículo endoplásmico (ER), *44*
ribosoma, *44*
simbiosis, *54*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina el término *célula*.
2. ¿Qué pruebas hay de que todas las células tienen un antepasado común?
3. Dibuje un esquema de una célula bacteriana. Marque y explique la función de cada uno de los componentes siguientes:
   a. nucleoide
   b. plásmido
   c. pared celular
   d. pilum
   e. flagelos
4. La cubierta externa de la mayoría de las células eucariotas es una membrana celular, mientras que la cubierta externa de las células procariotas es una pared celular. ¿Cuál es la diferente función de estas estructuras?
5. Indique si las estructuras siguientes están presentes en las células procariotas o eucariotas:
   a. núcleo
   a. membrana plasmática
   a. retículo endoplásmico
   a. mitocondrias
   a. nucléolo
6. Defina brevemente los siguientes términos:
   a. exocitosis
   b. biotransformación
   c. grana
   d. simbiosis
   e. automontaje
   f. hidrófobo
   g. hidrófilo
   h. proteína motora
   i. endosimbiosis
   j. proplástido
   k. tilacoide
7. ¿Cómo participan los lisosomas en la vida de una célula?
8. Los plástidos, estructuras que sólo se encuentran ___________, son de dos tipos. Éstos son _____________, que se utilizan para almacenar almidón y proteínas, y ________________, que acumulan pigmentos.
9. De una lista de pruebas que evidencien la hipótesis endosimbiótica.
10. ¿Qué función realiza el citoesqueleto en las células vivas?
11. Muchas células eucariotas carecen de pared celular. Sugiera varias razones por las que es una ventaja.
12. ¿Cuáles son dos de las funciones esenciales del núcleo?
13. ¿Qué funciones realizan en las células las proteínas de la membrana plasmática?
14. Nombre las dos formas del retículo endoplásmico. ¿Qué funciones realizan en la célula?
15. Describa las funciones del aparato de Golgi.

PREGUNTAS DE RAZONAR

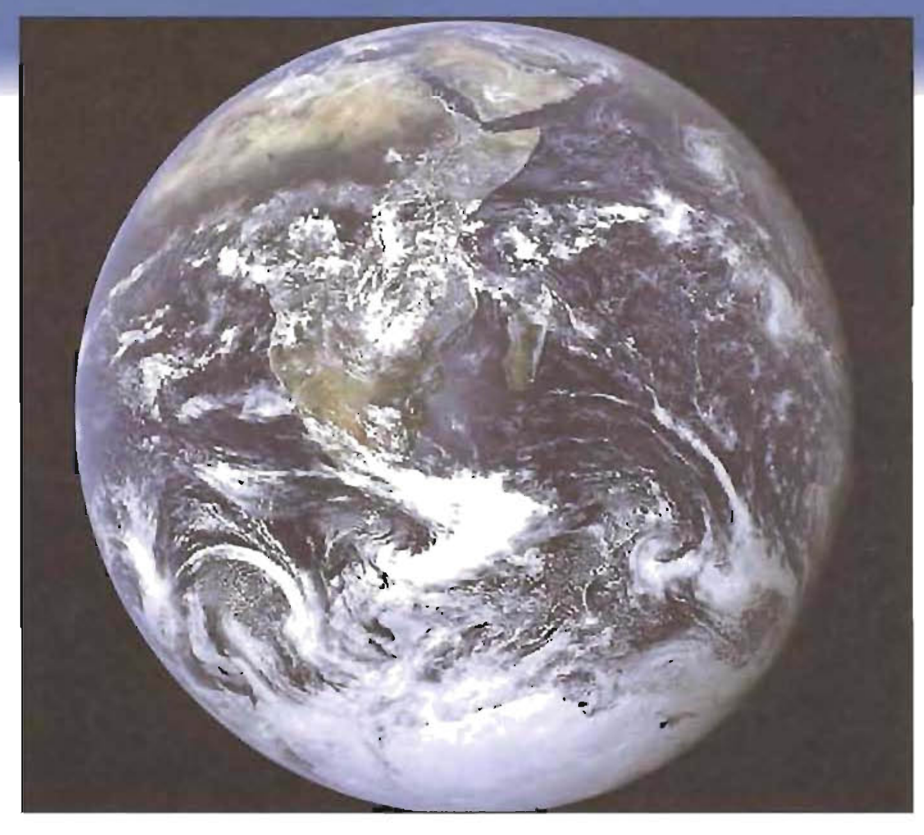
1. Varias bacterias patógenas (p. ej., *Bacillus anthracis*, la causa del carbunco) producen una capa mucoide más externa denominada cápsula, que puede estar formada por polisacáridos o proteínas. ¿Qué efecto piensa que tendrá esta «cubierta» sobre las interacciones de la bacteria con el sistema inmunitario de un animal?
2. Las células eucariotas están mucho más especializadas que las células procariotas. ¿Puede sugerir algunas ventajas y desventajas de la especialización?
3. La hipótesis endosimbiótica propone que las mitocondrias y los cloroplastos derivan de bacterias aerobias. ¿Existe alguna característica estructural de estos orgánulos que excluya que hayan sido producidos por las células eucariotas?
4. Además de proporcionar soporte, el citoesqueleto inmoviliza también enzimas y orgánulos en el citoplasma. ¿Qué ventaja tiene esta inmovilización sobre la difusión libre de los contenidos celulares por el citoplasma?

5. Un orgánulo particular que se encuentra en los eucariotas se piensa ha surgido a partir de un organismo de vida libre. ¿El hallazgo en el orgánulo de qué tipo de molécula apoyaría con fuerza esta hipótesis?
6. Los micoplasmas son bacterias poco corrientes que carecen de pared celular. Con un diámetro de 0.3 μm, se cree que son los organimos de vida libre más pequeños que se conocen. Por ejemplo, *Mycoplasma pneumoniae* produce una forma muy grave de neumonía. Suponiendo que los micoplasmas son esféricos, calcule el volumen de una célula individual. Compare el volumen de un micoplasma con el de *Escherichia coli*.
7. Las dimensiones de los ribosomas de los procariotas son aproximadamente 14 nm por 20 nm. Si los ribosomas ocupan el 20% del volumen de una célula bacteriana, calcule cuántos ribosomas hay en una célula característica como *E. coli*. Suponga que la forma de un ribosoma es aproximadamente la de un cilindro.

CAPÍTULO TRES

El agua: el medio de la vida

SUMARIO



El planeta del agua. Singular entre los planetas del sistema solar, la Tierra es un mundo oceánico. Las propiedades del agua hacen posible la vida sobre la Tierra.

El factor más importante en la evolución de la vida sobre la Tierra es el agua líquida abundante que hay sobre la superficie del planeta. Las características físicas y químicas diferenciales del agua son tan cruciales para los sistemas vivos que la vida indudablemente no hubiera podido surgir en su ausencia. Entre estas características están la estabilidad química del agua y sus notables propiedades disolventes. Donde hay agua, hay seres vivos. Aunque las cantidades grandes de agua, como los lagos y los océanos, mantienen poblaciones de organismos diversos y con frecuencia abundantes, determinados organismos especialmente adaptados también existen donde el agua está presente en cantidades pequeñas. Por ejemplo, en los desiertos, las tormentas lluviosas breves y poco frecuentes desencadenan inmediatamente el florecimiento de determinadas plantas. Estas plantas recorren su ciclo vital completo antes de que el agua de lluvia se haya evaporado completamente. El agua hace posible la vida aunque otras condiciones sean desfavorables (p. ej., climas extremos, calientes o fríos). Determinadas especies procariotas prosperan en manantiales calientes; otras florecen en la aguas heladas de los océanos Ártico y Antártico. De igual manera, las algas crecen en los bordes de los glaciares que se funden. ¿Por qué el agua es tan vital para

la vida? El entendimiento del papel esencial del agua en los procesos vivos requiere una revisión de su estructura molecular y de las propiedades físicas y químicas que son consecuencia de esa estructura.

La Tierra es singular entre los planetas de nuestro sistema solar principalmente debido a sus enormes océanos de agua. Formada durante miles de millones de años, el agua se produjo durante las interacciones a temperatura elevada entre los hidrocarburos atmosféricos y los silicatos y óxidos de hierro del manto terráqueo. La humedad alcanzó la superficie del planeta como vapor emitido durante las erupciones volcánicas. Los océanos se formaron al condensarse el vapor y volver de nuevo a la Tierra en forma de lluvia. La primera lluvia pudo haber durado más de 60 000 años.

Durante millones de años, el agua ha afectado profundamente a nuestro planeta. Ya sea cayendo como lluvia o fluyendo en los ríos, el agua ha erosionado las rocas más duras y ha transformado montañas y continentes.

Muchos científicos creen en la actualidad que la vida surgió en los antiguos mares. La vida no surgió por accidente unida al agua, dado que esta sustancia posee varias propiedades poco habituales que la hacen muy adecuada para ser el medio de la vida. Entre éstas se encuentran sus propiedades térmicas y sus características disolventes poco habituales. Las propiedades del agua están directamente relacionadas con su estructura molecular.

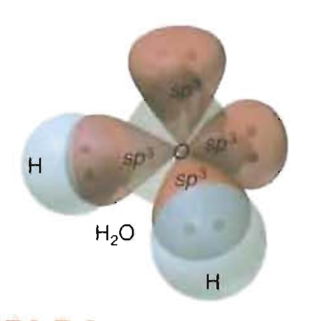


FIGURA 3-1

Estructura tetraédrica del agua.

En el agua, dos de los cuatro orbitales sp^3 del oxígeno están ocupados por dos pares solitarios de electrones. Cada uno de los otros dos orbitales sp^3 semillenos se llena con la adición de un electrón del hidrógeno.

3.1. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL AGUA

La molécula de agua (H_2O) está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno. El agua tiene una geometría tetraédrica debido a que su átomo de oxígeno tiene una hibridación sp^3. En el centro del tetraedro se encuentra el átomo de oxígeno. Dos de las esquinas están ocupadas por átomos de hidrógeno, cada uno de los cuales está unido al átomo de oxígeno por un enlace covalente sencillo (Fig. 3-1). Las otras dos esquinas están ocupadas por los pares de electrones sin compartir el oxígeno. El oxígeno es más electronegativo que el hidrógeno (es decir, el oxígeno tiene una capacidad mayor para atraer electrones cuando está unido al hidrógeno). Como consecuencia, el átomo de oxígeno más grande lleva una carga negativa parcial (δ^-) y cada uno de los dos átomos de hidrógeno llevan una carga positiva parcial (δ^+) (Fig. 3-2). La distribución electrónica de los enlaces oxígeno-hidrógeno se desplaza hacia el oxígeno y, por lo tanto, el enlace es **polar**. Si las moléculas de agua fueran lineales, las polaridades de los enlaces se equilibrarían y el agua sería apolar. Sin embargo, las moléculas de agua están dobladas con un ángulo de enlace de 104.5° (Fig. 3-3). De forma diferente, el dióxido de carbono (O=C=O), que también posee enlaces covalentes polares, es apolar debido a que la molécula es lineal.

Las moléculas como el agua, en las que la carga está separada, se denominan **dipolos**. Cuando los dipolos moleculares se encuentran en un campo eléctrico, se orientan a sí mismos en dirección opuesta a la del campo (Fig. 3-4).

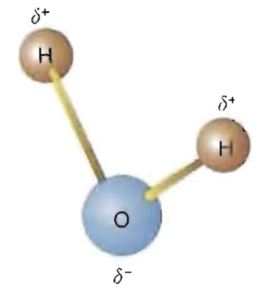


FIGURA 3-2

Cargas de una molécula de agua.

Los dos átomos de hidrógeno de cada molécula llevan cargas positivas parciales. El átomo de oxígeno lleva una carga negativa parcial.

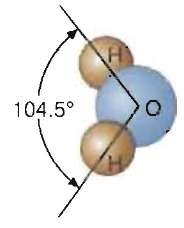


FIGURA 3-3

Modelo de relleno espacial de una molécula de agua.

Debido a que la molécula de agua tiene una geometría doblada, la distribución de la carga dentro de la molécula es asimétrica. El agua es por tanto polar.

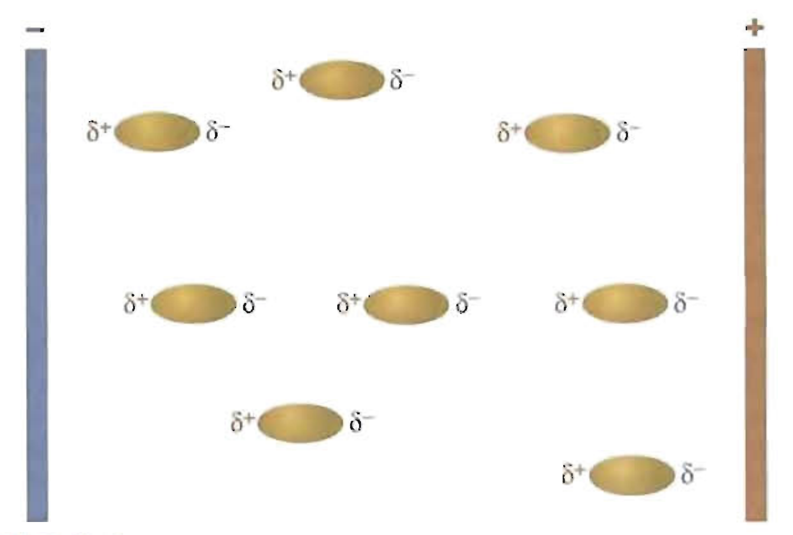


FIGURA 3-4

Dipolos moleculares en un campo eléctrico.

Cuando se colocan las moléculas polares entre placas cargadas, éstas se alinean de forma opuesta al campo.

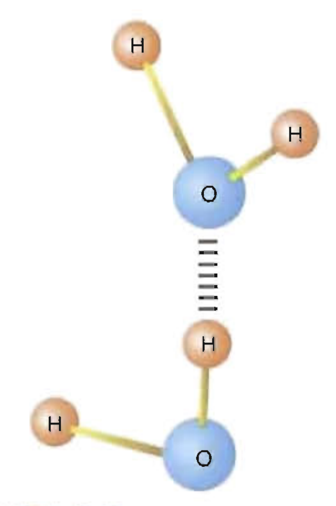


FIGURA 3-5

Enlace de hidrógeno.

Un enlace de hidrógeno es una atracción débil entre un átomo electronegativo en una molécula y un átomo de hidrógeno en otra molécula. Los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua están representados por líneas paralelas cortas.

Dada la gran diferencia de electronegatividad del hidrógeno y el oxígeno, los hidrógenos con deficiencia de electrones de una molécula de agua son atraídos hacia el par de electrones sin compartir de otra molécula de agua. (Los hidrógenos unidos a nitrógeno, azufre y flúor se comportan de la misma manera.) Esta interacción se denomina **enlace de hidrógeno** (Fig. 3-5), y tiene carácter electrostático (iónico) y covalente. Las **interacciones electrostáticas** entre las moléculas polares desempeñan un papel significativo en los seres vivos.

3.2 ENLACE NO COVALENTE

Las interacciones no covalentes son normalmente electrostáticas; es decir, se producen entre el núcleo positivo de un átomo y las nubes electrónicas negativas de otro átomo cercano. A diferencia de los enlaces covalentes más fuertes, las interacciones no covalentes individuales son relativamente débiles, y por lo tanto se rompen con facilidad (Cuadro 3-1). No obstante, desempeñan una función vital ya que determinan las propiedades químicas y físicas del agua, y la estructura y función de las biomoléculas debido a que el efecto acumulativo de muchas interacciones débiles puede ser considerable. Un gran número de interacciones no covalentes estabilizan las macromoléculas y las estructuras supramoleculares, mientras que la capacidad

CUADRO 3-1

Fuerzas de enlace de los enlaces que se encuentran característicamente en los seres vivos

Tipo de enlace	Fuerza de enlace kcal/mol	kJ/mol*
Covalente	>50	>210
No covalente		
Interacciones iónicas**	1-20	4-80
Enlaces de hidrógeno	3-7	12-30
Fuerzas de van der Waals	<1-2.7	0.3-9
Interacciones hidrófobas	<1-3	3-12

* 1 cal = 4.184 J.

** La fuerza real varía considerablemente con la identidad de las especies que interactúan.

de estos enlaces para formarse y romperse rápidamente dota a las biomoléculas de la flexibilidad requerida para que se reproduzca el flujo rápido de información que tiene lugar en los procesos vivos dinámicos. En los seres vivos, las interacciones no covalentes más importantes son las interacciones iónicas, el enlace de hidrógeno, las fuerzas de van der Waals y las interacciones hidrófobas. En esta sección se describen los tres primeros tipos, y las interacciones hidrófobas se describen en la Sección 3.4.

Interacciones iónicas

Las interacciones iónicas se producen entre átomos o grupos cargados. Los iones de carga opuesta, como el sodio (Na^+) y el cloruro (Cl^-), se atraen. De forma diferente, los iones con cargas similares, como Na^+ y K^+ se repelen. En las proteínas, determinadas cadenas laterales de los aminoácidos contienen grupos ionizables. Por ejemplo, la cadena lateral del aminoácido ácido glutámico a pH fisiológico se ioniza de la siguiente forma: $-CH_2CH_2COO^-$. La cadena lateral del aminoácido lisina ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-NH_2$) a pH fisiológico se ioniza de la forma $-CH_2CH_2CH_2CH_2-NH_3^+$. La atracción de las cadenas laterales de los aminoácidos cargados positivamente y negativamente forma **puentes salinos** ($-COO^- \cdot {}^+H_3N-$) y las fuerzas de repulsión creadas cuando las especies cargadas de forma semejante se aproximan son una característica importante de muchos procesos biológicos, como el plegamiento de las proteínas, la catálisis enzimática y el reconocimiento molecular. Debe observarse que raramente se forman puentes salinos estables entre las biomoléculas en presencia de agua debido a que se prefiere la hidratación de los iones y disminuye de forma significativa la atracción entre las biomoléculas . La mayoría de los puentes salinos de las biomoléculas se produce en depresiones relativamente exentas de agua o en las superficies de las biomoléculas donde el agua está excluida.

Enlaces de hidrógeno

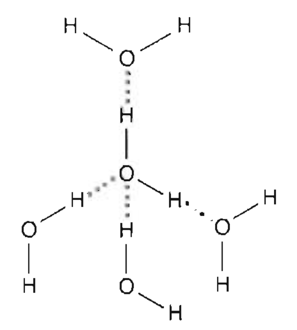


FIGURA 3-6

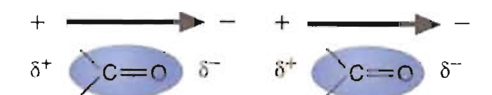
Enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua.

En el agua, cada molécula puede formar enlaces de hidrógeno con otras cuatro moléculas de agua.

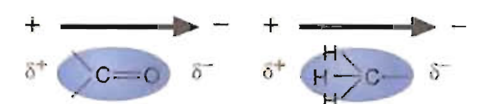
Los enlaces covalentes entre el hidrógeno y el oxígeno, el nitrógeno o el azufre son suficientemente polares, de forma que el núcleo de hidrógeno es atraído débilmente hacia el par de electrones solitario de un oxígeno, nitrógeno o azufre de una molécula vecina (Fig. 3-6). En la molécula de agua, cada par de electrones sin compartir del oxígeno puede formar un enlace de hidrógeno con moléculas de agua cercanas. Los «enlaces» intermoleculares resultantes actúan como un puente entre las moléculas de agua. Cada enlace de hidrógeno no es especialmente fuerte (unos 20 kJ/mol) cuando se compara con los enlaces covalentes (p. ej., 393 kJ/mol para los enlaces N—H y 460 kJ/mol para los enlaces O—H). Sin embargo, cuando pueden formarse un gran número de enlaces de hidrógeno intermoleculares (p. ej., en los estados líquido y sólido del agua), las moléculas implicadas se convierten en agregados tridimensionales grandes y dinámicos. En el agua, las cantidades sustanciales de energía que se requieren para romper estos agregados explican los valores elevados de sus puntos de ebullición y fusión, calor de vaporización y capacidad calorífica. Otras propiedades del agua, como la tensión superficial y la viscosidad, se deben también, en gran medida, a su capacidad para formar un gran número de enlaces de hidrógeno.

Fuerzas de van der Waals

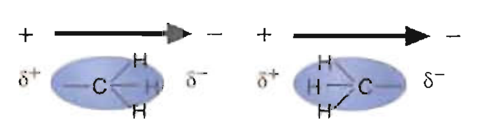
Las fuerzas de van der Waals son interacciones electrostáticas transitorias débiles. Se producen entre dipolos permanentes y/o inducidos. Pueden ser de atracción o repulsión, dependiendo de la distancia entre los átomos o los grupos implicados. La atracción entre las moléculas es mayor a una distancia denominada *radio de van der Waals*. Si se acercan más las moléculas, se produce una fuerza de repulsión. La magnitud de las fuerzas de van der Waals depende de la facilidad de polarización del átomo. Los átomos electronegativos con pares de electrones sin compartir se polarizan fácilmente.



(a) Interacciones dipolo-dipolo



(b) Interacciones dipolo-dipolo inducido



(a) Interacciones dipolo inducido-dipolo inducido

FIGURA 3-7
Interacciones dipolares.
Existen tres tipos de interacciones electrostáticas que implican dipolos: (a) interacciones dipolo-dipolo, (b) interacciones dipolo-dipolo inducido, y (c) interacciones dipolo inducido-dipolo inducido. La facilidad relativa con la que responden los electrones a un campo eléctrico determina la magnitud de las fuerzas de van der Waals. Las interacciones dipolo-dipolo son las más fuertes y las interacciones dipolo inducido-dipolo inducido las más débiles.

Hay tres tipos de fuerzas de van der Waals:

1. **Interaciones dipolo-dipolo**. Estas fuerzas, que se producen entre moléculas que contienen átomos elecronegativos, hacen que las moléculas se orienten a sí mismas, de forma que el extremo positivo de una molécula se dirige hacia el extremo negativo de otra (Fig. 3-7a). Los enlaces de hidrógeno (descritos en la sección anterior) son un tipo especialmente fuerte de interacción dipolo-dipolo.
2. **Interacciones dipolo-dipolo inducido**. Un dipolo permanente induce un dipolo transitorio en una molécula cercana al distorsionar su distribución electrónica (Fig. 3-7b). Por ejemplo, una molécula que contiene un carbonilo es atraída débilmente hacia un hidrocarburo. Las interacciones dipolo-dipolo inducido son más débiles que las interacciones dipolo-dipolo.
3. **Interacciones dipolo inducido-dipolo inducido**. El movimiento de los electrones en las moléculas apolares cercanas da lugar a un desequilibrio de carga transitorio en las moléculas adyacentes (Fig. 3-7c). Un dipolo transitorio en una molécula polariza los electrones de una molécula vecina. Esta interacción atractiva que se denomina **fuerza de dispersión de London**, es extremadamente débil. Un ejemplo clásico de este tipo de interacción es el apilamiento de los anillos de las bases en una molécula de DNA. Aunque individualmente débiles, estas interacciones que se extienden por toda la longitud de la molécula de DNA proporcionan una estabilidad significativa.

CONCEPTOS CLAVE 3.1

Los enlaces no covalentes (es decir, los enlaces de hidrógeno, las interacciones iónicas, las fuerzas de van der Waals y las interacciones hidrófobas) desempeñan funciones importantes en la determinación de las propiedades físicas y químicas del agua. También tienen un efecto significativo sobre la estructura y función de las biomoléculas.

3.3. PROPIEDADES TÉRMICAS DEL AGUA

Quizá la propiedad más singular del agua sea que es un líquido a la temperatura ambiente. Si se compara el agua con moléculas relacionadas de peso molecular semejante, queda claro que los puntos de fusión y ebullición del agua son excepcionalmente elevados (Cuadro 3-2). Si el agua siguiera el patrón de compuestos como el sulfuro de hidrógeno, debería fundir a −100 °C y hervir a −91 °C. En estas condiciones, la mayoría del agua de la Tierra sería vapor, siendo la vida improbable. Sin embargo, el agua realmente funde a 0 °C y se evapora a +100 °C. Por consiguiente, es un líquido en la mayor parte del intervalo de temperaturas que se encuentran de forma característica sobre la superficie de la Tierra. El enlace de hidrógeno es responsable de este comportamiento anómalo.

Debido a su estructura molecular, cada molécula de agua puede formar enlaces de hidrógeno con otras cuatro moléculas de agua. Cada una de estas últimas puede formar enlaces de hidrógeno con otras moléculas de agua. El número máximo de enlaces de hidrógeno se forma cuando el agua se congela y se convierte en hielo (Fig. 3-8). Para romper estos enlaces se requiere energía. Cuando se calienta el hielo hasta su punto de fusión, se rompen aproximadamente el 15 % de los

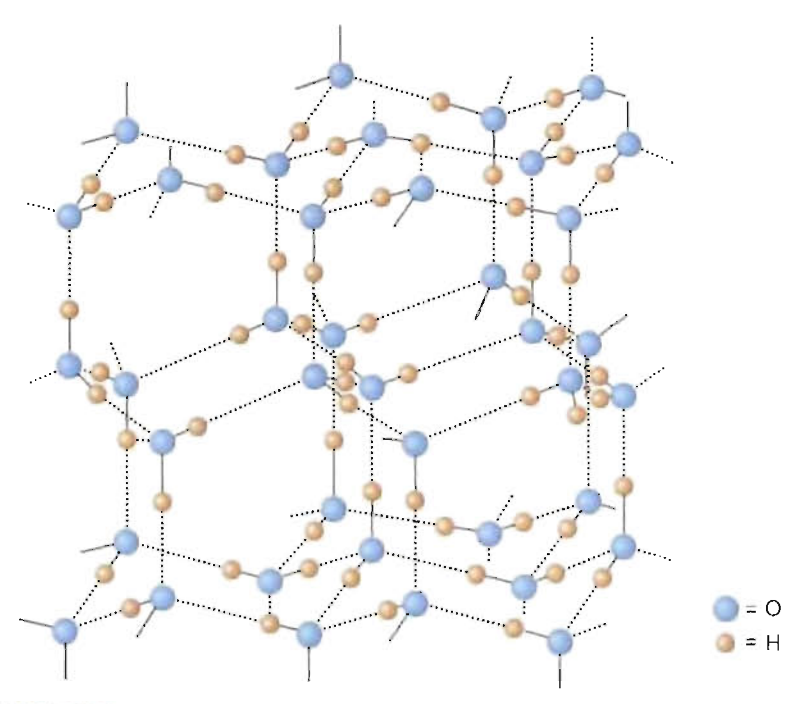


FIGURA 3-8

Enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua en el hielo.

Los enlaces de hidrógeno en el hielo producen una estructura muy abierta. El hielo es menos denso que el agua en su estado líquido.

enlaces de hidrógeno. El agua líquida está formada por agrupaciones de moléculas análogas al hielo cuyos enlaces de hidrógeno se están rompiendo y formando continuamente. Al aumentar la temperatura, el movimiento y las vibraciones de las moléculas de agua se aceleran y se rompen otros enlaces de hidrógeno. Cuando se alcanza el punto de ebullición las moléculas de agua se liberan una de otra y se vaporizan. La energía requerida para aumentar la temperatura del agua es sustancialmente mayor que la esperada (Cuadro 3-3). Además de la energía absorbida al aumentar la agitación molecular, una cantidad significativa de energía se disipa por la rápida vibración de los hidrógenos compartidos hacia atrás y hacia delante entre los átomos de oxígeno.

Una consecuencia del *calor de vaporización* (energía que se requiere para evaporar un mol de un líquido a la presión de una atmósfera) y de la *capacidad calorífica* (energía que debe añadirse o eliminarse para cambiar la temperatura un grado Celsius) elevados del agua es que ésta actúa como un modulador eficaz de la temperatura climática. El agua puede absorber y almacenar el calor solar y liberarlo lenta-

CUADRO 3-2

Puntos de fusión y de ebullición del agua y de otros compuestos del grupo VI que contienen hidrógeno

Nombre	Fórmula	Peso molecular (dalton*)	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)
Agua	H_2O	18	0	100
Sulfuro de hidrógeno	H_2S	34	−85.5	−260.7
Selenuro de hidrógeno	H_2Se	81	−50.4	−241.5
Telururo de hidrógeno	H_2Te	129.6	−49	−2

* 1 dalton = 1 unidad de masa atómica.

CUADRO 3-3

Calor de fusión del agua y de otros compuestos del grupo VI que contienen hidrógeno

Nombre	Fórmula	Peso molecular (dalton)	Calor de fusión (cal/g)	Calor de fusión (J/g)
Agua	H_2O	18	80	335
Sulfuro de hidrógeno	H_2S	34	16.7	69.9
Selenuro de hidrógeno	H_2Se	81	7.4	31

El calor de fusión es la cantidad de calor que se requiere para cambiar 1 g de un sólido en un líquido a su punto de fusión. 1 cal = 4.184 J.

mente. Ténganse en cuenta, por ejemplo, las transiciones de temperatura relativamente moderadas de las masas de tierra cerca de los océanos cuando cambian las estaciones. De forma diferente, en el interior de grandes masas de tierra, como el Medio Oeste americano, las estaciones comienzan bruscamente y las diferencias de temperatura entre las estaciones pueden ser considerables. En áreas excepcionalmente secas, como el desierto del Sahara, los cambios diarios de la temperatura pueden ser de hasta 38 °C. El calor absorbido durante el día en un desierto se pierde fácilmente volviendo a radiarse durante la noche.

No es sorprendente que el agua desempeñe un papel importante en la regulación térmica de los seres vivos. La elevada capacidad calorífica del agua, acoplada con el elevado contenido de agua que se encuentra en la mayoría de los organismos (entre el 50 % y el 95 %, dependiendo de las especies), ayuda a mantener la temperatura interna del organismo. La evaporación del agua se utiliza como un mecanismo de enfriamiento, dado que permite pérdidas elevadas de calor. Por ejemplo, un ser humano adulto puede eliminar hasta 1200 g de agua diariamente en el aire expirado, el sudor y la orina. La pérdida de calor asociada puede representar aproximadamente el 20 % del calor total generado por los procesos metabólicos.

CONCEPTOS CLAVE 3.2

El enlace de hidrógeno es responsable de los puntos de congelación y ebullición inusualmente elevados del agua. Debido a que el agua posee una capacidad calorífica elevada, puede absorber y liberar calor lentamente. El agua desempeña un papel importante en la regulación del calor en los seres vivos.

PREGUNTA 3.1

La molécula de amoníaco es semejante al agua. Tiene también un punto de ebullición mayor del que cabría esperar de su peso molecular, un calor de fusión (energía requerida para que la sustancia cambie entre los estados sólido y líquido) elevado y una capacidad calorífica elevada. Dibuje la estructura del amoníaco sólido. ¿Esperaría que este «hielo» fuera más o menos denso que el amoníaco líquido?

3.4. PROPIEDADES DISOLVENTES DEL AGUA

El agua es el disolvente biológico ideal. Disuelve con facilidad una gran diversidad de constituyentes de los seres vivos. Entre los ejemplos se incluyen los iones (p. ej., Na^+, K^+ y Cl^-), los azúcares y muchos aminoácidos. Su incapacidad para disolver otras sustancias, como los lípidos y determinados aminoácidos, hace posible las estructuras supramoleculares (p. ej., las membranas) y numerosos procesos bioquímicos (p. ej., el plegamiento proteico). En esta sección se describe el comportamiento en el agua de las sustancias hidrófilas e hidrófobas. Tras este tratamiento se da una revisión breve de la presión osmótica, una de las propiedades coligativas del agua. Las propiedades coligativas son propiedades físicas que se ven afectadas por la estructura específica de los solutos disueltos, y no por su número.

Moléculas hidrófilas

La estructura dipolar del agua y su capacidad para formar enlaces de hidrógeno con átomos electronegativos permite al agua disolver sustancias iónicas y polares. Las

sales, como el cloruro sódico (NaCl), están unidas mediante fuerzas iónicas. Un aspecto importante de todas las interacciones iónicas en disolución acuosa es la hidratación de los iones. Dado que las moléculas de agua son polares, son atraídas hacia los iones cargados, como el Na^+ y el Cl^-. Los caparazones de las moléculas de agua, denominados **esferas de solvatación**, se agrupan alrededor de los iones positivos y negativos (Fig. 3-9). Al hidratarse los iones, se reduce la fuerza de atracción entre ellos y las especies cargadas se disuelven en el agua. La constante dieléctrica señala la capacidad de un disolvente para reducir las fuerzas de atracción entre los iones. El agua, que suele denominarse *disolvente universal* debido a la gran variedad de sustancias iónicas y polares que puede disolver, posee una constante dieléctrica muy elevada. Debido a que las biomoléculas reconocen y se unen unas con otras principalmente a través de fuerzas intermoleculares, como los enlaces iónicos y otras interacciones electrostáticas, la debilidad de estas interacciones se evita excluyendo al agua de las superficies interaccionantes. Por ejemplo, la catálisis rápida de las moléculas de sustrato dentro de los lugares activos de las enzimas, que normalmente implica interacciones entre especies cargadas, es posible gracias a la exclusión del agua de la superficie catalítica.

También se disuelven en agua las moléculas orgánicas con grupos ionizables y muchas moléculas orgánicas neutras con grupos funcionales polares, principalmente a causa de la capacidad para formar enlaces de hidrógeno del disolvente. Estas asociaciones se forman entre el agua y los grupos carbonilo de aldehídos y cetonas, y los grupos hidroxilo de los alcoholes.

Moléculas hidrófobas

Cuando se mezclan con agua, se excluyen de la red de solvatación del agua pequeñas cantidades de sustancias apolares; es decir, se juntan en gotitas. Este proceso se denomina *efecto hidrófobo*. Las moléculas hidrófobas («aversión por el agua»), como los hidrocarburos, son virtualmente insolubles en agua. Su asociación en gotitas (o, en cantidades grandes, en una capa separada) es consecuencia de las propiedades disolventes del agua, no de la atracción relativamente débil entre las moléculas apolares que se asocian. Cuando las moléculas apolares entran en un ambiente acuoso, las moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno intentan formar una estructura en forma de caja alrededor de ellas (Fig. 3-10). No se dispone de energía

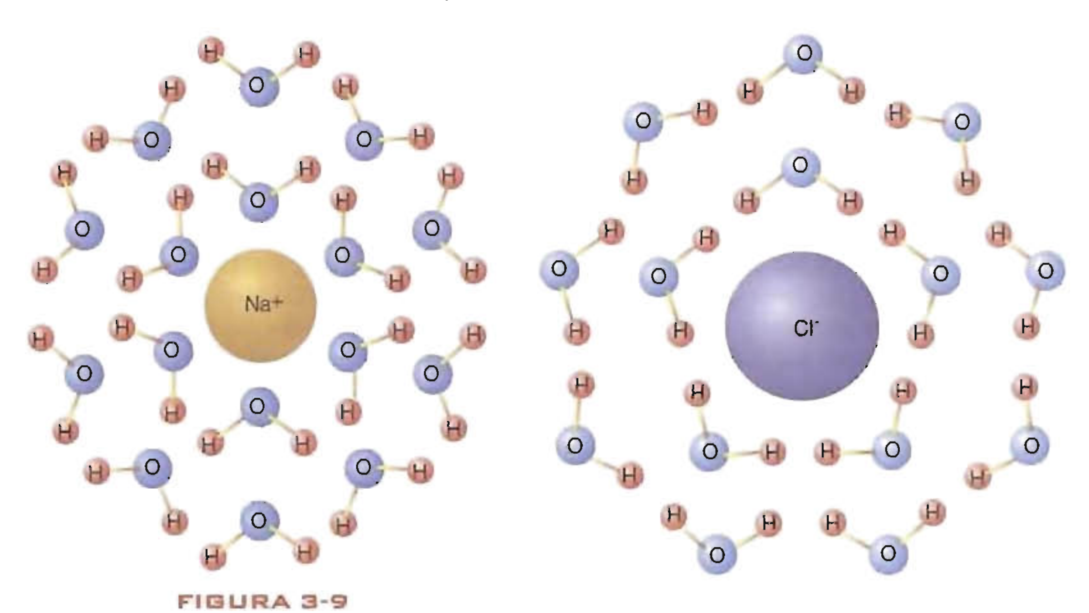


FIGURA 3-9

Esferas de solvatación de las moléculas de agua alrededor de los iones Na^+ y Cl^-.

Cuando se disuelve en agua un compuesto iónico como el NaCl, sus iones se separan debido a que las moléculas polares de agua atraen a los iones más que éstos se atraen entre sí.

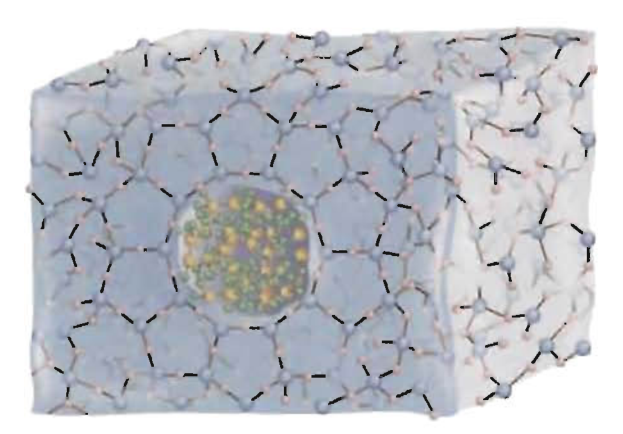


FIGURA 3-10

Efecto hidrófobo.

Cuando se mezclan moléculas apolares y agua, se forma una esfera de solvatación compuesta por muchas capas de moléculas de agua ordenadas por enlaces de hidrógeno, alrededor de las moléculas hidrófobas. Aunque las moléculas apolares, cuando se encuentran próximas, se atraen entre ellas por las fuerzas de van der Waals, la fuerza impulsora de la formación de las esferas de solvatación es la fuerte tendencia de las moléculas de agua a formar enlaces de hidrógeno entre ellas mismas. Las moléculas apolares quedan excluidas, ya que no pueden formar enlaces de hidrógeno.

suficiente en los alrededores para formar una estructura en forma de caja y las moléculas apolares son expulsadas. Las gotitas que se forman se producen por la configuración energéticamente más favorable de las moléculas de agua que las rodean. Las **interacciones hidrófobas** entre estas sustancias apolares excluidas tienen un efecto profundo sobre las células. Por ejemplo, son principalmente responsables de la estructura de las membranas y de la estabilidad de las proteínas.

PREGUNTA 3.2

Las proteínas son polímeros de aminoácidos. El enlace no covalente desempeña un papel importante en la determinación de las estructuras tridimensionales de las proteínas. Más abajo se presentan ejemplos típicos de interacciones no covalentes (áreas sombreadas) entre cadenas laterales de aminoácidos.

```
    H   H   O   H   H   O   H   H   O
    |   |   ||  |   |   ||  |   |   ||
 —N—C—C—N—C—C—N—C—C—
        |           |           |
      (CH2)4       CH2         CH2
        |           |           |
      +NH3          C—NH2     (benzeno)
                    ||
                    O
      O-            H
      |             |
      C=O           O
      |             |        CH3   CH3
    H CH2          CH2          \ /
    | |             |            CH
 —N—C—C—N—C—C—N—C—C—
        |   ||  |   |   ||  |   |   ||
        H   O   H   H   O   H   H   O
```

¿Qué enlace no covalente es el principal responsable de las interacciones indicadas en la figura?

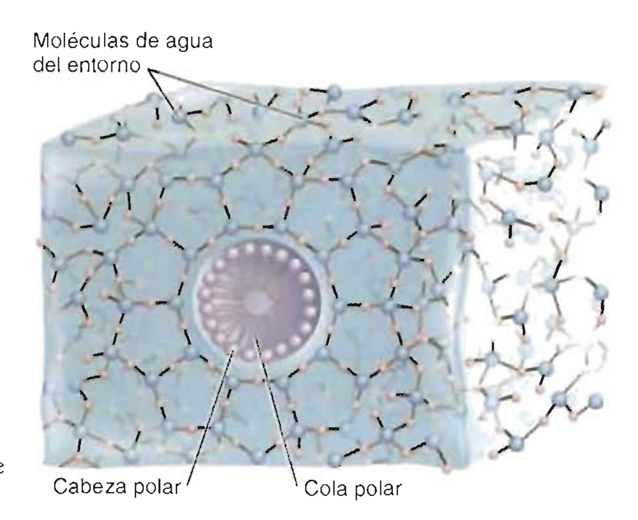


FIGURA 3-11
Formación de micelas.
Las cabezas polares de las moléculas anfipáticas se orientan a sí mismas de forma que entran en contacto con las moléculas de agua. La colas apolares se agregan en el centro, lejos del agua.

Moléculas anfipáticas

Un gran número de biomoléculas denominadas **anfipáticas** contienen grupos polares y apolares. Esta propiedad afecta significativamente a su comportamiento en el agua. Por ejemplo, los ácidos grasos ionizados son moléculas anfipáticas debido a que contienen grupos carboxilato hidrófilos y grupos hidrocarbonados hidrófobos. Cuando se mezclan con el agua, las moléculas anfipáticas forman estructuras denominadas *micelas* (Fig. 3-11). En las **micelas**, las especies cargadas (los grupos carboxilato), denominadas *cabezas polares*, se orientan a sí mismas de forma que están en contacto con el agua. Las «colas» hidrocarbonadas apolares quedan secuestradas en el interior hidrófobo. La tendencia de las biomoléculas anfipáticas a reagruparse espontáneamente en el agua es una característica importante de numerosos componentes celulares. Por ejemplo, un grupo de moléculas de fosfolípidos formadoras de bicapas es la característica estructural básica de las membranas biológicas (véase el Capítulo 11).

CONCEPTOS CLAVE 3.3

La estructura dipolar del agua y su capacidad para formar enlaces de hidrógeno capacitan al agua para disolver muchas sustancias iónicas y polares. Debido a que las sustancias apolares no pueden formar enlaces de hidrógeno, no se disuelven en agua. Las moléculas anfipáticas, como las sales de los ácidos grasos, se reagrupan espontáneamente a sí mismas en el agua para formar micelas.

Presión osmótica

Ósmosis es el proceso espontáneo por el cual las moléculas del disolvente pasan a través de una membrana semipermeable desde una disolución de menor concentración de soluto a una disolución de mayor concentración de soluto. Los poros de la membrana son de tamaño suficiente para permitir el paso de las moléculas de disolvente a través suyo en ambas direcciones, pero demasiado estrechos para que pasen las moléculas de soluto más grandes o los iones. En la Figura 3-12 se explica el movimiento del disolvente a través de una membrana. Al comenzar el proceso, hay menos moléculas de agua en el lado de la membrana con la concentración elevada de soluto. Con el tiempo, se mueven desde el lado A (menor concentración de soluto) más moléculas de agua hacia el lado B (mayor concentración de soluto). Cuanto

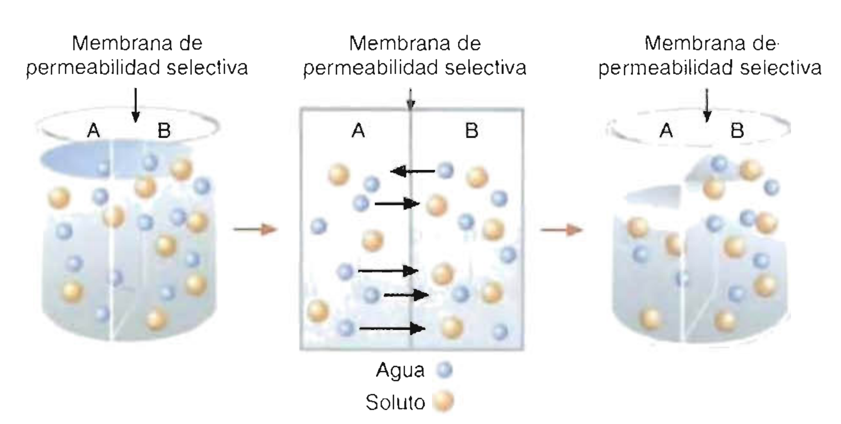


FIGURA 3-12
Presión osmótica.
Con el tiempo el agua difunde desde el lado A (más diluido) al lado B (más concentrado). El equilibrio entre las disoluciones a ambos lados de una membrana semipermeable se obtiene cuando no hay movimiento neto de las moléculas de agua del lado A al lado B. La presión osmótica detiene el flujo neto de agua a través de la membrana.

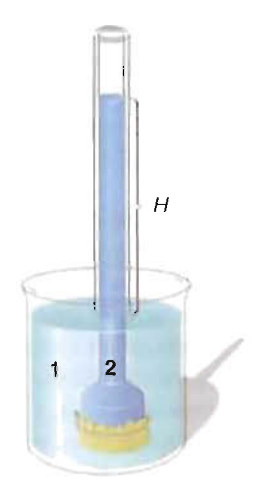


FIGURA 3-13
Medida de la ósmosis utilizando un osmómetro. El volumen 1 contiene agua pura y el volumen 2 una disolución de sacarosa. La membrana es permeable al agua pero no a la sacarosa. Por lo tanto, habrá un movimiento neto de agua en el osmómetro. La presión osmótica es proporcional a la altura *H* de la disolución en el tubo.

mayor es la concentración de agua en una disolución (es decir, menor concentración de soluto), más rápido es el movimiento a través de la membrana. La **presión osmótica** es la presión que se requiere para detener el flujo neto de agua a través de la membrana. La fuerza generada por ósmosis puede ser considerable. La causa principal del flujo de agua a través de las membranas celulares, la presión osmótica es una fuerza impulsora de numerosos procesos vivos. Por ejemplo, la presión osmótica parece ser un factor significativo en la formación de la savia en los árboles.

La presión osmótica depende de la concentración de soluto. Un dispositivo denominado *osmómetro* (Fig. 3-13) mide la presión osmótica. Ésta puede también calcularse utilizando la siguiente ecuación, teniendo en cuenta que la presión osmótica final refleja la contribución de todos los solutos presentes.

$$\pi = iMRT$$

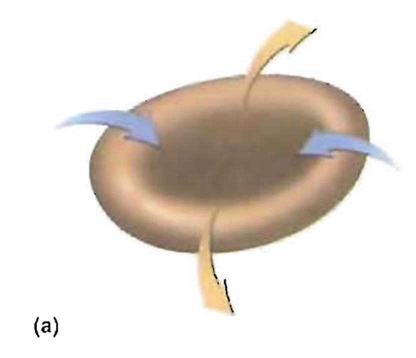
donde π = presión osmótica (atm)
i = factor de van't Hoff (refleja la ionización de los solutos)
M = molaridad (moles/litro)
R = constante de los gases (0.082 L · atm/K · mol)
T = temperatura Kelvin

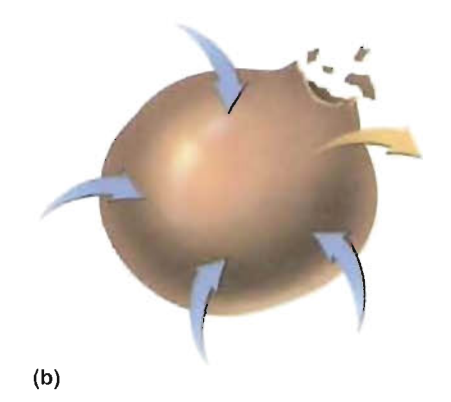
La concentración de una disolución puede expresarse en términos de *osmolaridad*. La unidad de osmolaridad es el osmol/litro. En la ecuación anterior, la osmolaridad es igual a iM, donde i (el factor de van't Hoff) representa el grado de ionización de las especies de soluto. El grado de ionización de una disolución 1 M de NaCl es del 90 %, con un 10 % del NaCl en forma de pares iónicos.

$$i = [Na^+] + [Cl^-] + [NaCl]_{\text{no ionizado}} = 0.9 + 0.9 + 0.1 = 1.9$$

El valor de i para esta disolución es, por lo tanto, de 1.9. El valor de i se acerca a 2 para las disoluciones de NaCl según se van diluyendo. El valor de i para una disolución 1 M de un ácido débil que se ioniza un 10% es 1.1. El valor de i para un soluto no ionizable es siempre 1.0. En la página 76 aparecen varios problemas sobre la presión osmótica.

La presión osmótica crea algunos problemas importantes a los seres vivos. Las células contienen concentraciones bastante elevadas de solutos, es decir, moléculas orgánicas pequeñas y sales iónicas, así como concentraciones menores de macromoléculas. Por consiguiente, las células pueden ganar o perder agua debido a la concentración de soluto de su alrededor. Si las células se colocan en una **disolución isotónica** (es decir, la concentración de soluto y de agua es la misma a ambos lados de la membrana plasmática de permeabilidad selectiva) no hay movimiento neto de agua en ninguna dirección a través de la membrana (Fig. 3-14). Por ejemplo, los eritrocitos son isotónicos con una disolución de ClNa del 0.9 %. Cuando las células se colocan en una disolución con una concentración de soluto menor (es decir, una **disolución hipotóni-**


(a)


(b)

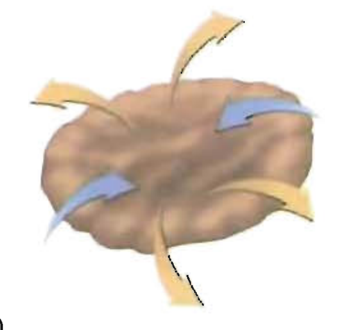

(c)

FIGURA 3-14
Efecto de las disoluciones hipertónicas e hipotónicas sobre las células animales.
(a) Las disoluciones isotónicas no modifican el volumen celular debido a que la cantidad de agua que entra y sale de la célula es la misma; (b) las disoluciones hipotónicas rompen las células; (c) las disoluciones hipertónicas arrugan las células (crenación).

ca), el agua se mueve dentro de las células. Los eritrocitos, por ejemplo, se hinchan y rompen en un proceso denominado *hemólisis* cuando se sumergen en agua pura. En **disoluciones hipertónicas**, aquellas con concentraciones de soluto mayores, las células se encogen debido a que existe un movimiento neto de agua fuera de la célula. El encogimiento de los eritrocitos en una disolución hipertónica (p. ej., NaCl al 3 %) se denomina *crenación*.

Debido a su concentración celular relativamente baja, las macromoléculas tienen un efecto directo pequeño sobre la osmolaridad celular. Sin embargo, las macromoléculas, como las proteínas, contienen un gran número de grupos ionizables. El gran número de iones de carga opuesta que atraen estos grupos tiene un efecto sustancial sobre la osmolaridad intracelular. A diferencia de la mayoría de los iones, los grupos ionizables de las proteínas no pueden penetrar en las membranas celulares. (Las membranas celulares no son, hablando estrictamente, membranas osmóticas, ya que permiten que pasen a través suyo varios iones, nutrientes y productos de desecho. El término *membrana dializadora* aporta una descripción más exacta de su función.) La consecuencia de esto es que, en el equilibrio, las distribuciones iónicas no son iguales en los dos lados de la membrana celular. En su lugar, las concentraciones intracelulares de iones inorgánicos son mayores que fuera de la célula. La existencia de esta asimetría sobre las superficies de la membrana celular da lugar al establecimiento de un gradiente eléctrico denominado **potencial de membrana**, que proporciona los medios para la conducción eléctrica, el transporte activo e incluso el transporte pasivo. Debido a este fenómeno, denominado **efecto Donnan**, hay una tendencia constante a que la célula se hinche, producida por la entrada de agua como consecuencia de la presión osmótica. Por lo tanto, las células deben regular constantemente su osmolaridad. Por ejemplo, muchas células animales y bacterianas expulsan determinados iones inorgánicos como el Na^+. Este proceso, que requiere una proporción sustancial de energía celular, controla el volumen celular (Recuadro de interés especial 3.1). Varias especies, como algunos protozoos y algas, expelen periódicamente agua desde vacuolas contráctiles especiales. Debido a que las células vegetales poseen paredes celulares rígidas, las plantas utilizan el efecto Donnan para crear una presión hidrostática interna, denominada *presión turgente* (Fig. 3-15). Este proceso impulsa el crecimiento celular y la expansión, y da rigidez a muchas estructuras vegetales.

PROBLEMA 3.1

Cuando se diluye 0.1 g de urea (P.M. = 60) a 100 mL con agua, ¿cuál es la presión osmótica de la disolución? (Suponga que la temperatura es de 25 °C).

Solución

Calcule la osmolaridad de la disolución de urea.

$$\text{Molaridad} = \frac{0.1 \text{ g de urea} \times 1 \text{ mol}}{60 \text{ g}} \times \frac{1}{0.1 \text{ L}}$$

El número de partículas producidas por mol de soluto es 1. La presión osmótica a 25 °C (298 K) viene dada por la ecuación

$$\pi = iMRT$$

La urea no es un electrólito, por lo que $i = 1$

$$\pi = (1)\,\frac{1.7 \times 10^{-2} \text{ mol}}{\text{L}}\,\frac{0.0821 \text{ L} \cdot \text{atm}}{\text{K} \cdot \text{mol}}\,(298 \text{ K}) \qquad \pi = 0.42 \text{ atm}$$

PROBLEMA 3.2

Calcule la presión osmótica de una disolución 0.1 M de NaCl a 25 °C. Suponga un 100 % de ionización del soluto.

Solución

Una disolución 0.1 M de NaCl produce 0.2 moles de partículas por litro (0.1 mol de Na^+ y 0.1 mol de Cl^-). La presión osmótica a 25 °C (298 K) es

$$\pi = \frac{2 \times 0.1 \text{ mol}}{\text{L}} \times \frac{0.0821 \text{ L} \cdot \text{atm}}{\text{K} \cdot \text{mol}} \times 298 \text{ K} \qquad \pi = 4.9 \text{ atm}$$

PREGUNTA 3.3

La presión osmótica puede utilizarse para determinar el peso molecular de las sustancias puras. Es una técnica especialmente útil debido a que las concentraciones bajas de soluto producen presiones osmóticas relativamente grandes. Aunque se dispone de técnicas más sofisticadas para determinar el peso molecular, la presión osmótica se utiliza aún algunas veces debido a su simplicidad. Determine el peso molecular de la mioglobina (una proteína de almacenamiento de oxígeno que proporciona al músculo su color rojo). La presión osmótica de 1.0 mL de disolución acuosa que contiene 1.5×10^{-3} g de la proteína fue 2.06×10^{-3} atm a 25 °C.

3.5 IONIZACIÓN DEL AGUA

Las moléculas de agua líquida poseen una capacidad limitada para formar un ion hidrógeno (H^+) y un ion hidróxido (OH^-). El H^+ no existe realmente en disolución acuosa. En agua un protón se combina con una molécula de agua para formar H_3O^+, denominado corrientemente *ion hidronio*. Por conveniencia, se utilizará H^+ para representar las reacciones de ionización del agua.

La disociación del agua

$$H_2O(l) \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

puede expresarse como

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

donde K_{eq} es la constante de equilibrio de la reacción. Como la concentración molar del agua pura (55.5M) es considerablemente mayor que la de cualquier soluto, se considera también una constante. (La concentración del agua $[H_2O]$ se obtiene dividiendo el número de gramos en 1 litro de agua, 1000g, por el peso molecular del agua, 18 g/mol.) Tras sustituir este valor en esta ecuación, puede volver a escribirse como sigue:

$$K_{eq} \times 55.5 = [H^+][OH^-]$$

El término $K_{eq} \times 55.5$ se denomina producto iónico del agua (K_w). Como la constante de equilibrio para la ionización reversible del agua es igual a 1.8×10^{-16} M (a 25 °C), la relación anterior da

$$K_w = (1.8 \times 10^{-16})(55.5) = [H^+][OH^-] = 1.0 \times 10^{-14}$$

Esto significa que el producto de $[H^+]$ y $[OH^-]$ en cualquier disolución de agua (a 25 °C) es siempre 1×10^{-14}. Como $[H^+]$ es igual a $[OH^-]$ cuando se disocia el agua pura,

$$[H^+] = [OH^-] = 1 \times 10^{-7} \text{ M}$$

Así, la concentración de ion hidrógeno en agua pura es igual a 1×10^{-7}.

Cuando una disolución contiene cantidades iguales de H^+ y OH^-, se dice que es *neutra*. Cuando una sustancia iónica o polar se disuelve en agua, puede cambiar el número relativo de H^+ y OH^-. Las disoluciones con un exceso de H^- son *ácidas*, mientras que aquellas con un número mayor de OH^- son *básicas*. La concentración del ion hidrógeno varía en un intervalo muy amplio: corrientemente entre 10^0 y 10^{-14} M, lo cual proporciona la base de la escala de pH (pH = $-\log [H^+]$).

CONCEPTOS CLAVE 3.4

La ósmosis es el movimiento del agua a través de una membrana semipermeable desde una disolución diluida a una disolución más concentrada. La presión osmótica es la presión ejercida por el agua sobre una membrana semipermeable debido a la diferencia de concentración de solutos a ambos lados de la membrana.

Ácidos, bases y pH

El ion hidrógeno es uno de los iones más importantes en los sistemas biológicos. La concentración de este ion afecta a la mayoría de los procesos celulares y del organismo. Por ejemplo, la estructura y función de las proteínas, y las velocidades de la mayoría de las reacciones bioquímicas están muy afectadas por la concentración de ion hidrógeno. Además, el ion hidrógeno desempeña un papel fundamental en procesos como la generación de energía (véase el Capítulo 10) y la endocitosis.

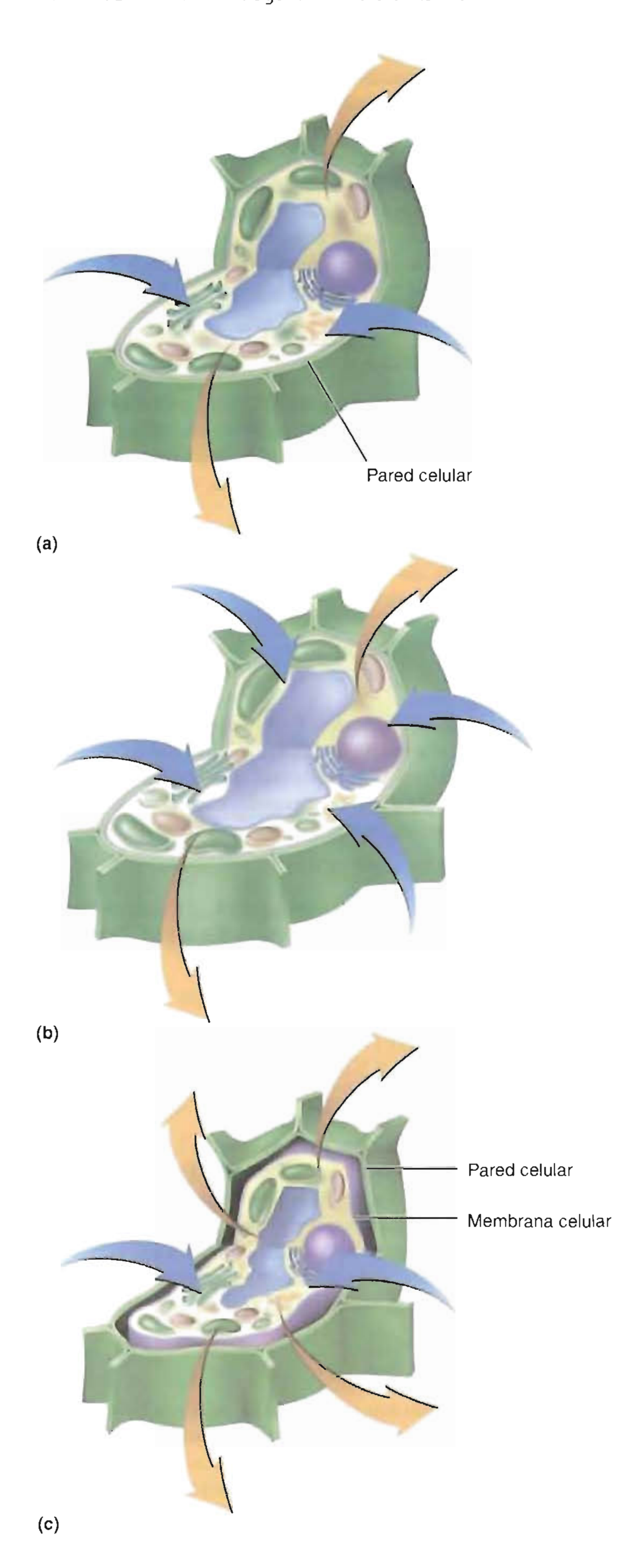


FIGURA 3-15

Presión osmótica y células vegetales.

(a) Las disoluciones isotónicas no modifican el volumen celular. (b) Las células vegetales normalmente se encuentran en un ambiente hipotónico. Cuando entra el agua, estas células se hinchan. Las paredes rígidas de la célula evitan que las células estallen. (c) En un ambiente hipertónico la membrana celular se separa de la pared celular debido a la pérdida de agua, y la planta se marchita.

Regulación del volumen celular y metabolismo

Las células se encuentran en peligro constante. Aun los cambios más pequeños del equilibrio de solutos entre sus interiores y sus alrededores hacen a la célula vulnerable a los cambios potencialmente dañinos de la presión osmótica. Cualquier incapacidad para manejar el equilibrio osmótico puede conducir a distorsiones de forma y volumen que comprometan la función celular. Sin embargo, en los organismos multicelulares, como los animales, las células individuales normalmente no se encuentran expuestas a fluctuaciones significativas de la osmolaridad de su entorno. En su lugar, se considera actualmente que están continuamente sometidas a variaciones internas creadas por los procesos metabólicos normales. Las tareas de rutina, como la captación de nutrientes (p. ej., azúcares, ácidos grasos y aminoácidos), la excreción de productos de desecho (p. ej., H^+ y CO_2) y los procesos metabólicos, como la síntesis y degradación de las macromoléculas (p. ej., proteínas y glucógeno) producen desequilibrios osmóticos.

Los esfuerzos investigadores han desvelado que las células poseen varios mecanismos sofisticados que, juntos, corrigen rápidamente hasta los menores cambios de la osmolaridad. El mejor entendido de éstos es el intercambio de iones inorgánicos a través de las membranas (Fig. 3A). Por ejemplo, cuando una célula se dedica a la síntesis de proteínas, la reducción resultante de la concentración de aminoácidos produce la salida de agua de la célula. La célula responde importando K^+, Na^+ y Cl^- (intercambiado por HCO_3^-) a través de canales especializados de la membrana. El gradiente osmótico creado por este proceso da lugar a un flujo de agua hacia el interior de la célula, restaurando así el volumen celular normal. Cuando se degradan las proteínas, se produce el proceso opuesto. El incremento de la concentración de aminoácidos osmóticamente activos hace que la célula se hinche. Los iones (p. ej., K^+, Cl^- y HCO_3^-) seguidos por el agua se mueven entonces a través de la membrana plasmática fuera de la célula y se restablece el volumen celular.

El volumen celular puede controlarse también por la síntesis de sustancias osmóticamente activas denominadas **osmolitos**. Por ejemplo, cuando se enfrentan con una agresión osmótica, algunas células producen grandes cantidades de alcoholes (p. ej., sorbitol, véase la pág. 208), aminoácidos o derivados de aminoácidos como la taurina (véase la pág. 413). Las células también restablecen el equilibrio osmótico sintetizando o degradando macromoléculas como el glucógeno. No están aún resueltos los medios precisos por los que las células controlan el equilibrio osmótico. Se sabe que los cambios del volumen celular señalados por distorsiones del citoesqueleto producen alteraciones de la expresión de los genes, alguno de los cuales codifica la síntesis de proteínas de canales de membrana y osmolitos.

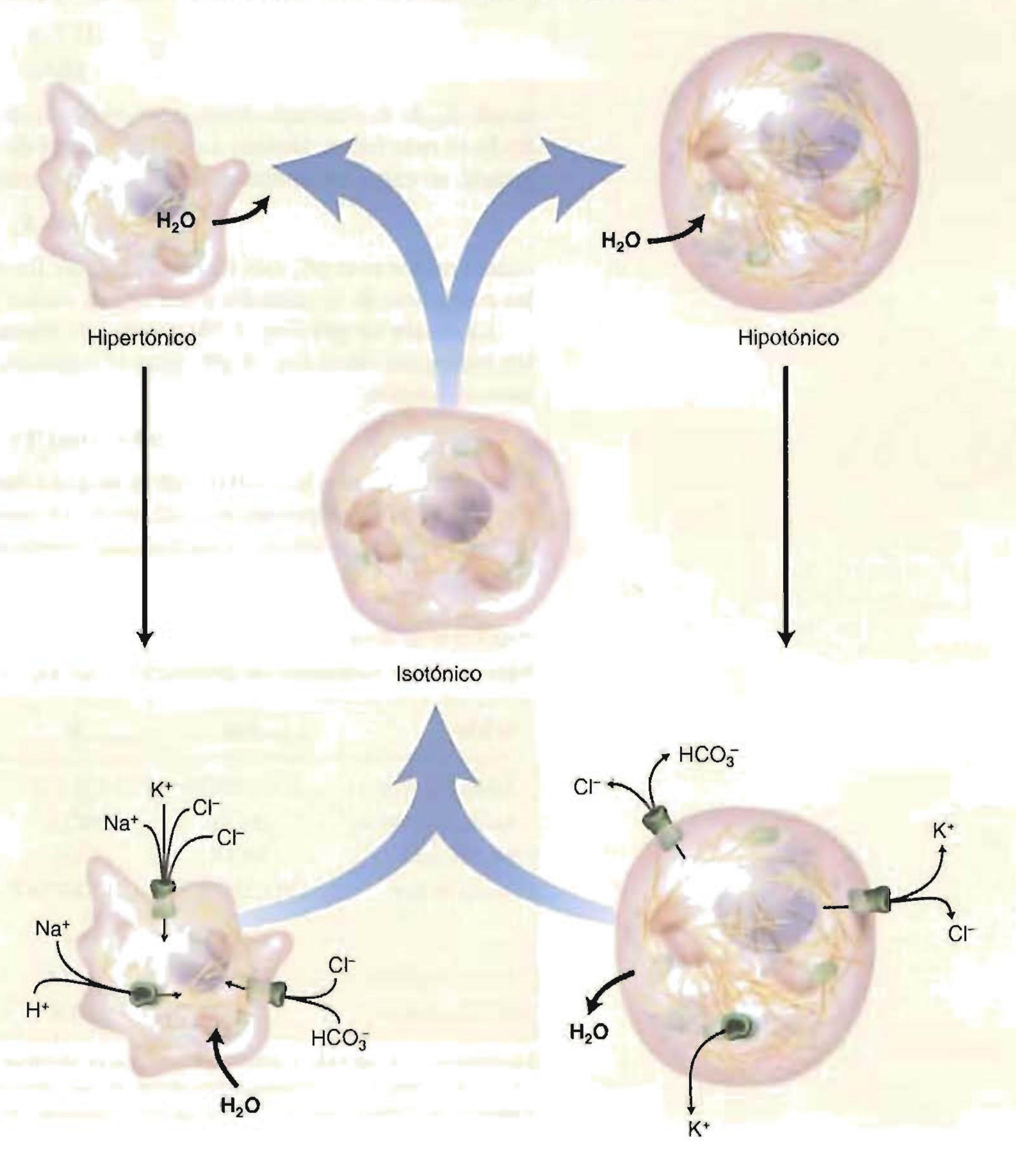


FIGURA 3A

Presión osmótica y cambios del volumen celular. Las células se encogen cuando se exponen a un medio hipertónico o cuando los procesos bioquímicos reducen el número de partículas osmóticamente activas. El equilibrio osmótico de las células se restablece cuando entran los iones inorgánicos, como el Na^+, el K^+ y el Cl^-. En determinadas células, el Na^+ y el Cl^- pueden entrar por intercambio con el H^+ y el HCO_3^-, respectivamente. La célula vuelve a su volumen normal al fluir el agua de nuevo al interior de la célula. Las células se hinchan cuando se colocan en un medio hipotónico o aumentan su concentración de partículas osmóticamente activas a través del transporte o la degradación de macromoléculas. El equilibrio osmótico se restablece con la expulsión de los iones inorgánicos y la salida de agua.

Muchas biomoléculas poseen propiedades ácidas o básicas. Hay varias definiciones posibles de estas clases importantes de compuestos iónicos. Sin embargo, para nuestros fines, un **ácido** puede definirse como un donador de iones hidrógeno, y una **base** como un aceptor de iones hidrógeno. Los ácidos (p. ej., HCl) y bases (p. ej., NaOH) fuertes se ionizan casi completamente en agua:

$$HCl \longrightarrow H^+ + Cl^- \qquad NaOH \longrightarrow Na^+ + OH^-$$

Sin embargo, muchos ácidos y bases no se disocian completamente. Los ácidos orgánicos (compuestos con grupos carboxilo) no se disocian completamente en agua, y se denominan **ácidos débiles**. Las bases orgánicas poseen una capacidad pequeña, aunque mensurable, para combinarse con los iones hidrógeno. Muchas **bases débiles** comunes contienen grupos amino.

La reacción siguiente describe la disociación de un ácido orgánico:

$$\underset{\text{Ácido débil}}{HA} \rightleftharpoons \underset{\text{Base conjugada de HA}}{H^+ + A^-}$$

Obsérvese que el producto desprotonado de la reacción de disociación se denomina **base conjugada**. Por ejemplo, el ácido acético (CH_3COOH) se disocia para formar la base conjugada acetato (CH_3COO^-).

La fuerza de un ácido débil (es decir, su capacidad para liberar iones hidrógeno) puede determinarse utilizando la siguiente expresión:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

donde K_{eq} es la constante de disociación del ácido. Cuanto mayor es el valor K_{eq}, el ácido es más fuerte. Debido a que los valores de K_{eq} varían dentro de un intervalo grande, se expresan utilizando una escala logarítmica:

$$pK_a = -\log K_a$$

cuanto menor es el pK_a más fuerte es el ácido. En el Cuadro 3-4 se dan los valores de las constantes de disociación y los pK_a de varios ácidos débiles comunes.

La **escala de pH** (Fig. 3-16) expresa de forma conveniente la concentración de ion hidrógeno. Se define el pH como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno:

$$pH = -\log[H^+]$$

En la escala de pH, la neutralidad se define como pH 7 (es decir, $[H^+]$ es igual a 1×10^{-7} M). Las soluciones con valores de pH menores de 7 (es decir, $[H^+]$ mayores de 1×10^{-7} M) son ácidas. Aquellas con valores de pH mayores de 7 son básicas o alcalinas.

CUADRO 3-4

Valores de las constantes de disociación y los pK_a de varios ácidos débiles comunes

Ácido	HA	A^-	K_a	pK_a
Ácido acético	CH_3COOH	CH_3COO^-	1.76×10^{-5}	4.76
Ácido carbónico	H_2CO_3	HCO_3^-	4.30×10^{-7}	6.37
Bicarbonato	HCO_3^-	CO_3^{2-}	5.61×10^{-11}	10.25
Ácido láctico	$CH_3CH(OH)COOH$	$CH_3CH(OH)COO^-$	1.38×10^{-4}	3.86
Ácido fosfórico	H_3PO_4	$H_2PO_4^-$	7.25×10^{-3}	2.14
Fosfato diácido	$H_2PO_4^-$	HPO_4^{2-}	6.31×10^{-8}	7.20

Las constantes de equilibrio deberían expresarse en términos de actividades en lugar de concentraciones (la actividad es la concentración eficaz de una sustancia en una disolución). Sin embargo, en disoluciones diluidas, las actividades pueden sustituirse por las concentraciones con una exactitud razonable.

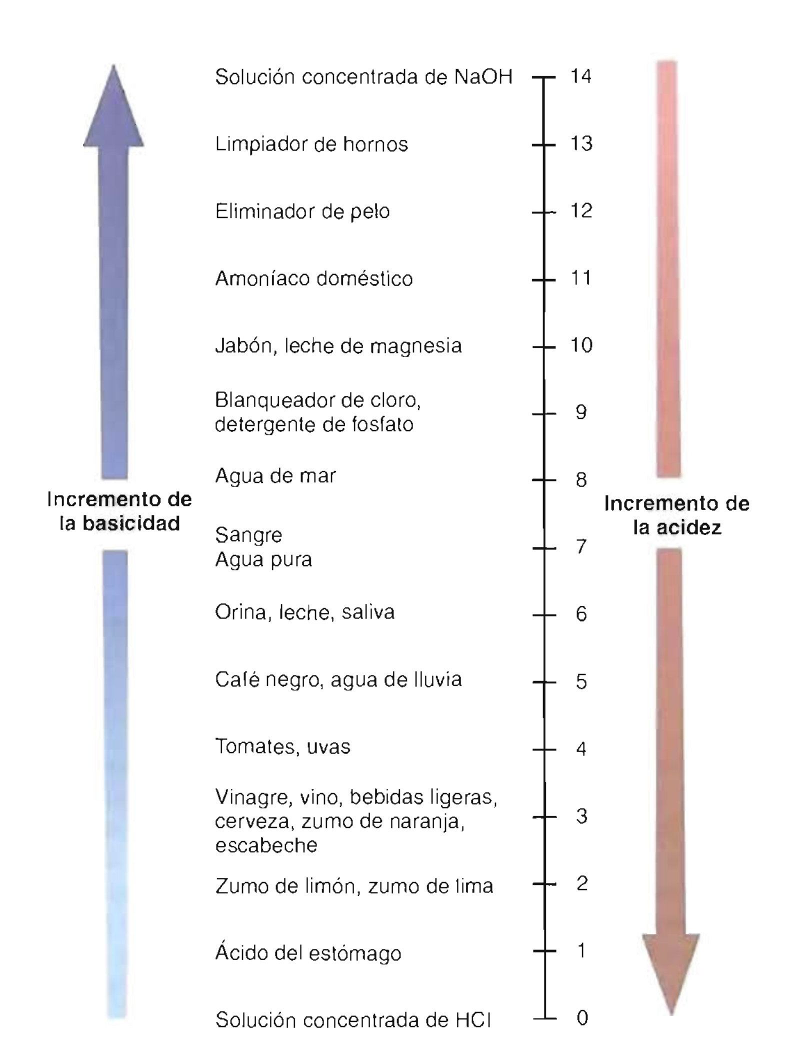


FIGURA 3-16
Escala de pH y pH de los líquidos más comunes.

Es importante señalar que aunque pK_a y pH parecen ser expresiones matemáticas semejantes, en realidad son diferentes. A temperatura constante, el valor de pK_a de una sustancia es una constante. De forma diferente, los valores de pH de un sistema pueden variar.

Amortiguadores

La regulación del pH es una actividad universal y esencial de los seres vivos. La concentración de ion hidrógeno debe mantenerse dentro de unos límites muy estrechos. Por ejemplo, la sangre humana normal tiene un pH de 7.4. Puede variar entre 7.35 y 7.45, aunque la sangre normalmente contiene disueltos en ella muchos productos de desecho ácidos y básicos. Algunas enfermedades producen cambios de pH que, si no se corrigen, pueden ser desastrosos. La **acidosis**, un trastorno que se produce cuando el pH de la sangre desciende por debajo de 7.35, es consecuencia de una producción excesiva de ácidos en los tejidos, de una pérdida de bases de los líquidos corporales, o de un fallo de los riñones para excretar metabolitos ácidos. La acidosis tiene lugar en determinadas enfermedades (p. ej., diabetes mellitus) y durante la inanición. Si el pH de la sangre cae por debajo de 7, el sistema nervioso central se deprime, lo cual conduce al coma y, finalmente, a la muerte. Cuando el pH aumenta por encima de 7.45, tiene lugar una **alcalosis**. Este trastorno, causado por vómitos prolongados o por la ingestión de cantidades excesivas de fármacos alcalinos, sobreexcita al sistema nervioso central y los músculos entran en un estado de espasmo. Si no se corrige, se producen convulsiones y parada respiratoria.

Los **amortiguadores** ayudan a mantener una concentración de ion hidrógeno relativamente constante. Los amortiguadores más habituales son los ácidos débiles y

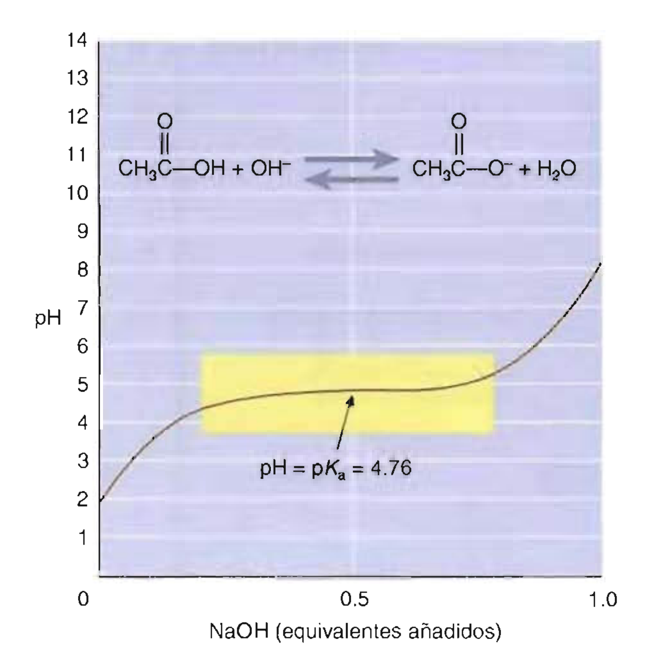


FIGURA 3-17

Titulación del ácido acético con NaOH.

La banda sombreada indica el intervalo de pH en el que el amortiguador acetato opera eficazmente. La mayor eficacia de un amortiguador se produce cerca de su valor de pK_a.

sus bases conjugadas. Una solución amortiguada puede soportar cambios de pH debido a que entre los componentes del amortiguador se establece un equilibrio. Por lo tanto, los amortiguadores obedecen al **principio de Le Chatelier**, que establece que si a una reacción en equilibrio se le aplica una distorsión, el equilibrio se desplazará en la dirección que contrarreste la distorsión. Considere una disolución que contiene un amortiguador acetato, que consta de ácido acético y acetato sódico (Fig. 3-17). El amortiguador se crea mezclando una disolución de acetato sódico con una disolución de ácido acético para obtener una mezcla de equilibrio del pH y la fuerza iónica correcta.

$$CH_3-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-OH \rightleftharpoons CH_3-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-O^- + H^+$$

Si se añaden iones hidrógeno, el equilibrio se desplaza hacia la formación de ácido acético y el $[H^+]$ cambia poco:

$$H^+ + CH_3COO^- \longrightarrow CH_3COOH$$

Si se añaden iones hidróxido, reaccionan con los iones hidrógeno libres para formar agua y el equilibrio se desplaza hacia el ion acetato y el pH cambia poco.

$$CH_3-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-OH \rightleftharpoons CH_3-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-O^- + H^+$$

$$H^+ + OH^- \longrightarrow H_2O$$

CAPACIDAD AMORTIGUADORA La capacidad de un amortiguador para mantener un pH específico depende de dos factores: (1) la concentración molar del par ácido-base conjugada, y (2) el cociente de sus concentraciones. La capacidad amortiguadora es directamente proporcional a la concentración de los componentes del amortiguador. En otras palabras, cuantas más moléculas del amortiguador estén presentes, más cantidades de iones H^+ y OH^- pueden absorberse sin que cambie el pH. La concentración del amortiguador se define como la suma de la concentración del ácido débil y de su base conjugada. Por ejemplo, un amortiguador acetato 0.2 M

puede contener 0.1 mol de ácido acético y 0.1 mol de acetato sódico en 1 L de H_2O. Un amortiguador así puede también estar formado por 0.05 mol de ácido acético y 0.15 mol de acetato sódico en 1 L de H_2O. Los amortiguadores más eficaces son aquellos que contienen concentraciones iguales de ambos componentes. Sin embargo, hay excepciones. El amortiguador bicarbonato (pág. 86), uno de los amortiguadores fisiológicos más importantes, se desvía significativamente de ese cociente.

ECUACIÓN DE HENDERSON-HASSELBALCH Al elegir o hacer un amortiguador, son útiles los conceptos de pH y pK_a. La relación entre estas dos magnitudes se expresa en la ecuación de Henderson-Hasselbalch, que deriva de la expresión de equilibrio:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Despejando $[H^+]$ queda

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Tomando el logaritmo negativo de cada lado, se obtiene

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Definiendo $-\log [H^+]$ como pH y $-\log K_a$ como pK_a, da

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Si el término log se invierte, cambiando de esta forma su signo, se obtiene la siguiente relación denominada *ecuación de Henderson-Hasselbalch*:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Tenga en cuenta que cuando $[A^-] = [HA]$, la ecuación se transforma en

$$pH = pK_a + \log 1 = pK_a + 0$$

En estas circunstancias, el pH es igual al pK_a. El gráfico de la Figura 3.17 ilustra que los amortiguadores son más eficaces cuando están formados por cantidades iguales de un ácido débil y la base conjugada. El amortiguamiento más eficaz tiene lugar en la parte de la curva de titulación que tiene la pendiente mínima, es decir, 1 unidad de pH por encima y por debajo del valor de pK_a.

A continuación se dan algunos problemas típicos sobre amortiguadores, junto con sus soluciones.

CONCEPTOS CLAVE 3.5

Las moléculas de agua líquida poseen una capacidad limitada para ionizarse y formar iones H^+ y OH^-. La concentración de iones hidrógeno es una característica crucial de los sistemas biológicos, principalmente debido a sus efectos sobre las velocidades de las reacciones bioquímicas y la estructura de las proteínas. Los amortiguadores, que constan de ácidos débiles y sus bases conjugadas, evitan los cambios de pH (una medida de $[H^+]$).

PROBLEMA 3.3

Calcule el pH de una mezcla de ácido acético 0.25 M y acetato sódico 0.1 M. El pK_a del ácido acético es 4.76.

Solución

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}$$

$$pH = 4.76 + \log \frac{0.1}{0.25} = 4.76 - 0.398 = 4.36$$

PROBLEMA 3.4

¿Cuál es el pH del problema anterior si la mezcla está formada por ácido acético 0.1 M y acetato sódico 0.25 M?

Solución

$$pH = 4.76 + \log \frac{0.25}{0.1} = 4.76 + 0.398 = 5.16$$

PROBLEMA 3.5

Calcule el cociente de ácido láctico y lactato que se requiere en un sistema amortiguador de pH 5.00. El pK_a del ácido láctico es 3.86.

Solución

La ecuación

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{lactato}]}{[\text{ácido láctico}]}$$

puede reagruparse a

$$\log \frac{[\text{lactato}]}{[\text{ácido láctico}]} = \text{pH} - \text{p}K_a = 5.00 - 3.86 = 1.14$$

Por lo tanto, el cociente que se requiere es

$$\frac{[\text{lactato}]}{[\text{ácido láctico}]} = \text{antilog } 1.14 = 13.8$$

Para que un amortiguador de lactato tenga un pH de 5, los componentes lactato y ácido láctico deben estar presentes con un cociente de 13.8 a 1. Dado que un buen amortiguador contiene una mezcla de un ácido débil y su base conjugada presentes en concentraciones cercanas a la igualdad y cuando el pH amortiguado está dentro de 1 unidad de pH del pK_a, el amortiguador lactato no es una buena elección en esta situación. Una elección mejor hubiera sido el amortiguador acetato.

PROBLEMA 3.6

Durante la fermentación del vino se produce por una reacción bioquímica un amortiguador que consta de ácido tartárico y tartrato ácido de potasio. Suponiendo que en algún momento la concentración de tartrato ácido de potasio es el doble que la de ácido tartárico, calcule el pH del vino. El pK_a del ácido tartárico es 2.96.

Solución

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{tartrato ácido}]}{[\text{ácido tartárico}]} = 2.96 + \log 2 = 2.96 + 0.30 = 3.26$$

PROBLEMA 3.7

¿Cuál es el pH de una disolución que se prepara mezclando 150 mL de HCl 0.1 M con 300 mL de acetato sódico (NaOAc) 0.1 M y diluyendo la mezcla a 1 L? El pK_a del ácido acético es 4.76

Solución

La cantidad de ácido presente en la disolución viene dada por la ecuación

$$\text{mL} \times \text{M} = \text{mM}$$

$$150 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M} = 15 \text{ mM de ácido}$$

La cantidad de acetato sódico se obtiene utilizando la misma ecuación:

$$300 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M} = 30 \text{ mM}$$

Cada mol de HCl consumirá 1 mol de acetato sódico y producirá 1 mol de ácido acético. Esto dará ácido acético 15 mM y quedará acetato sódico 15 mM (es decir, 30 mM – 15 mM). Sustituyendo estos valores en la ecuación de Henderson-Hasselbalch se obtiene

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{15}{15} = 4.76 + \log 1 = 4.76$$

Dado que el término logarítmico es el cociente de dos concentraciones, puede eliminarse el factor volumen y pueden utilizarse directamente las cantidades molares.

PROBLEMA 3.8

¿Cuál sería el efecto de añadir una cantidad adicional de 50 mL de HCl 0.1 M a la disolución del Problema 3.7 antes de la dilución a 1 L?

Solución

Utilizando la misma ecuación del Problema 3.7, la cantidad de HCl sería

$$200 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M} = 20 \text{ mM}$$

que es también igual a la concentración de ácido acético.

La cantidad de acetato sódico sería

$$30 \text{ mM} - 20 \text{ mM} = 10 \text{ mM}$$

Sustituyendo en la ecuación de Henderson-Hasselbalch se obtiene

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{10}{20} = 4.76 + \log 0.5 = 4.76 - 0.3 = 4.46$$

ÁCIDOS DÉBILES CON MÁS DE UN GRUPO IONIZABLE Algunas moléculas contienen más de un grupo ionizable. El ácido fosfórico (H_3PO_4) es un ácido poliprótico débil, es decir, puede donar más de un ion hidrógeno (en este caso, tres iones hidrógeno). Durante la titulación con NaOH (Fig. 3-18), estas ionizaciones se producen en pasos, liberándose cada vez un protón:

$$H_3PO_4 \underset{}{\overset{pK_1 = 2.1}{\rightleftharpoons}} H^+ + H_2PO_4^- \overset{pK_2 = 6.7}{\rightleftharpoons} H^+ + HPO_4^{2-} \overset{pK_3 = 12.3}{\rightleftharpoons} H^+ + PO_4^{3-}$$

(El pK_a para el grupo más ácido es el pK_1. El pK_a del siguiente grupo más ácido es pK_2. El valor de pK_a del tercer grupo más ácido es pK_3). A pH bajo, la mayoría de las moléculas se encuentra totalmente protonadas. Al añadir NaOH se liberan los pro-

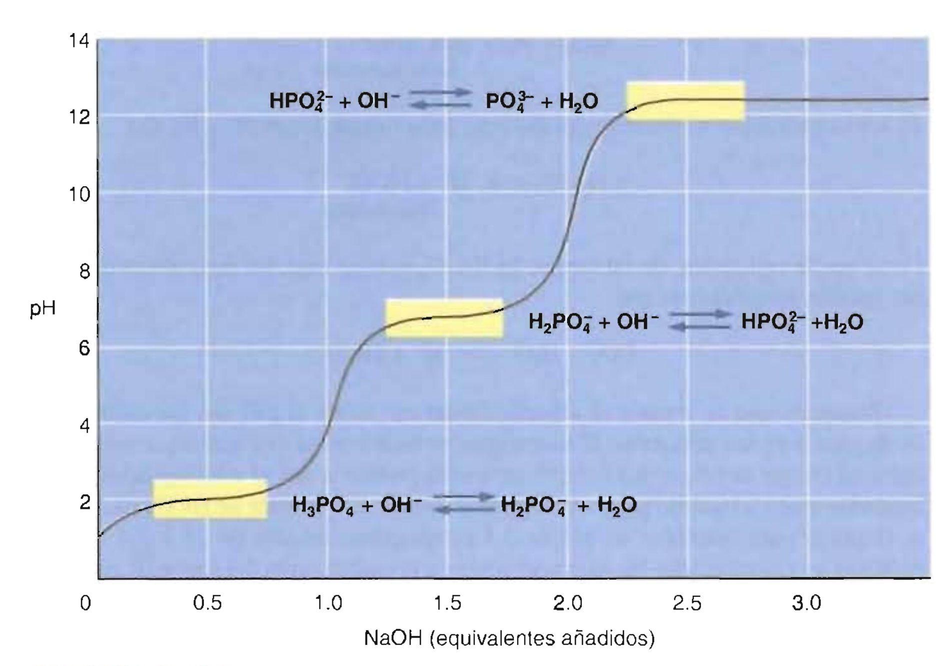


FIGURA 3-18

Titulación del ácido fosfórico con NaOH.

El ácido fosfórico (H_3PO_4) es un ácido poliprótico que libera secuencialmente 3 protones cuando se titula con NaOH.

tones, en orden decreciente de acidez, ionizándose el último el protón menos ácido (con el mayor valor de pK_a). Cuando el pH es igual al pK_1, en la disolución hay cantidades iguales de H_3PO_4 y $H_2PO_4^-$.

Los aminoácidos son biomoléculas que contienen varios grupos ionizables. Como todos los aminoácidos, la alanina contiene un grupo carboxilo y un grupo amino. A pH bajo, ambos grupos se encuentran protonados. Al aumentar el pH durante una titulación con NaOH, el grupo carboxilo ácido (COOH) pierde su protón para formar un grupo carboxilato (COO^-). La adición de más NaOH hace, en última instancia, liberar su protón al grupo amino ionizado:

$$H_3\overset{+}{N}-CH(CH_3)-C(=O)-OH \underset{}{\overset{pK_1 = 2.3}{\rightleftharpoons}} H^+ + H_3\overset{+}{N}-CH(CH_3)-C(=O)-O^- \overset{pK_1 = 9.7}{\rightleftharpoons} H^+ + H_2N-CH(CH_3)-C(=O)-O^-$$

Determinados aminoácidos poseen también cadenas laterales con grupos ionizables. Por ejemplo, la cadena lateral de la lisina posee un grupo amino ionizable. Debido a sus estructuras, la alanina, la lisina y los otros aminoácidos pueden actuar como amortiguadores eficaces. Posteriormente, en el Capítulo 5 se describen la titulación y la capacidad amortiguadora de los aminoácidos.

Amortiguadores fisiológicos

Los tres amortiguadores más importantes del organismo son el bicarbonato, el fosfato y las proteínas. Cada uno de ellos está adaptado para resolver problemas fisiológicos específicos del organismo.

AMORTIGUADOR BICARBONATO El amortiguador bicarbonato, uno de los amortiguadores más importantes de la sangre, posee tres componentes. El primero, el dióxido de carbono, reacciona con el agua para formar ácido carbónico:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{Ácido carbónico}}{H_2CO_3}$$

El ácido carbónico se disocia rápidamente para formar iones H^+ y HCO_3^-:

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + \underset{\text{Bicarbonato}}{HCO_3^-}$$

Dado que la concentración en sangre de H_2CO_3 es muy baja, las ecuaciones anteriores pueden simplificarse en:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Recuerde que la capacidad amortiguadora es mayor al pK_a del par ácido-base conjugada o en sus cercanías. El amortiguador bicarbonato es claramente muy poco habitual en que su pK_a es 6.37. A primera vista parecería que el amortiguador bicarbonato es poco adecuado para amortiguar la sangre. El cociente de HCO_3^- a CO_2 que se requiere para mantener un pH de 7.4 es aproximadamente de 11 a 1. En otras palabras, el amortiguador bicarbonato opera en la sangre cerca del límite de su poder de amortiguación. Además, las concentraciones de CO_2 y de HCO_3^- no son excepcionalmente elevadas. A pesar de estos inconvenientes, el sistema amortiguador bicarbonato es importante, ya que pueden regularse ambos componentes. La concentración de dióxido de carbono se ajusta mediante cambios de la velocidad de respiración.

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$$

Los riñones regulan la concentración de bicarbonato. Si disminuye la concentración de bicarbonato (HCO_3^-), los riñones eliminan H^+ de la sangre, desplazando el equilibrio hacia la derecha al aumentar [HCO_3^-]. El ácido carbónico que se pierde en este proceso se repone rápidamente hidratando CO_2, un producto de desecho del metabolismo celular. Cuando se producen cantidades excesivas de HCO_3^-, se eliminan por el riñón. La adición de ácido al sistema bicarbonato del organismo, desciende [HCO_3^-] y se forma CO_2. Dado que el exceso de CO_2 se exhala, el cociente de HCO_3^- a CO_2 permanece esencialmente inalterado.

AMORTIGUADOR FOSFATO El amortiguador fosfato consta de un par ácido débil-base conjugada $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ (Fig. 3-19):

$$\underset{\text{Fosfato diácido}}{H_2PO_4^-} \rightleftharpoons H^+ + \underset{\text{Fosfato ácido}}{HPO_4^{2-}}$$

Con un pK_a de 7.2, aparentemente el amortiguador fosfato es una elección excelente para amortiguar la sangre. Aunque el pH de 7.4 de la sangre está dentro de las capacidades de este sistema amortiguador, las concentraciones de $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} de la sangre son demasiado bajas para tener un efecto importante. En su lugar, el sistema fosfato es un amortiguador importante en los líquidos intracelulares, donde su concentración es aproximadamente 75 mEq/L. La concentración de fosfato en los líquidos extracelulares, como la sangre, es de alrededor de 4 mEq/L. (Se define un equivalente como la masa de ácido o base que puede dar o aceptar 1 mol de iones H^+. La abreviatura mEq indica un miliequivalente.) Dado que el pH normal de los líquidos celulares es aproximadamente 7.2 (el intervalo es de 6.9 a 7.4), generalmente existe una mezcla equimolar de $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-}. Aunque las células contienen otros ácidos débiles, estas sustancias no son importantes como amortiguadores. Sus concentraciones son bastantes bajas, y sus valores de pK_a son significativamente menores que el pH intracelular. Por ejemplo, el ácido láctico tiene un pK_a de 3.86.

CONCEPTOS CLAVE 3.6

Los amortiguadores más importantes del organismo son el amortiguador bicarbonato (sangre), el amortiguador fosfato (líquidos intracelulares) y el amortiguador proteína.

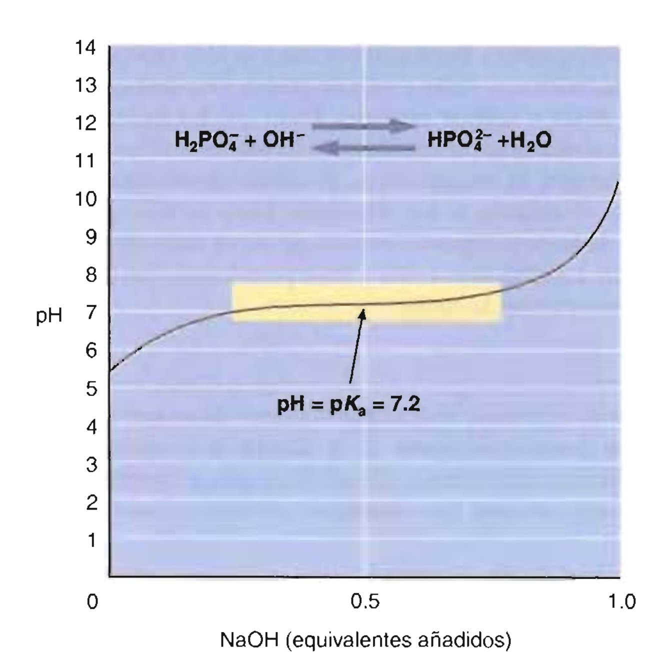


FIGURA 3-19

Titulación del $H_2PO_4^-$ por una base fuerte.

La banda sombreada indica el intervalo de pH en el que opera de forma eficaz como amortiguador el par ácido débil-base conjugada $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$.

RESUMEN

1. Las moléculas de agua (H_2O) están formadas por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno. Cada átomo de hidrógeno está ligado al átomo de oxígeno por un enlace covalente sencillo. Los enlaces oxígeno-hidrógeno son polares y las moléculas de agua son dipolos. Una consecuencia de la polaridad del agua es que las moléculas de agua se atraen unas a otras por las fuerzas electrostáticas entre el oxígeno de una molécula y el hidrógeno de otra. Esta atracción se denomina enlace de hidrógeno.
2. Los enlaces no covalentes son relativamente débiles y, por lo tanto, fácilmente rompibles. Desempeñan una función vital en la determinación de las propiedades físicas y químicas del agua y las biomoléculas. Las interacciones iónicas se producen entre átomos o grupos cargados. Aunque cada enlace de hidrógeno no es especialmente fuerte cuando se compara con los enlaces covalentes, un gran número de ellos tiene un efecto significativo sobre las moléculas implicadas. Las fuerzas de van der Waals se producen entre dipolos permanentes y/o inducidos. Pueden ser de atracción o de repulsión.
3. El agua posee una capacidad calorífica excepcionalmente elevada. Sus puntos de ebullición y fusión son significativamente mayores que los de compuestos de estructura y peso molecular comparables. El enlace de hidrógeno es responsable de este comportamiento anómalo.
4. El agua es un disolvente notable. La estructura dipolar del agua y su capacidad para formar enlaces de hidrógeno la hacen capaz de disolver muchas sustancias iónicas y polares.
5. Las moléculas de agua líquida poseen una capacidad limitada para ionizarse y formar un ion hidrógeno (H^+) y un ion hidróxido (OH^-). Cuando una disolución contiene cantidades iguales de H^+ y OH^-, se dice que es neutra. Las disoluciones con un exceso de H^+ son ácidas, mientras que las que tienen un mayor número de OH^- son básicas. Debido a que los ácidos orgánicos no se disocian completamente en agua, se denominan ácidos débiles. La constante ácida de disociación K_a es una medida de la fuerza de un ácido débil. Como los valores de K_a varían en un intervalo grande, en su lugar se utilizan los valores de pK_a ($-\log K_a$).
6. El ion hidrógeno es uno de los iones más importantes en los sistemas biológicos. La escala de pH expresa de forma conveniente la concentración de ion hidrógeno. El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno.
7. Debido a que la concentración de ion hidrógeno afecta tan profundamente a los procesos vivos, no es sorprendente que la regulación del pH sea una actividad esencial de los seres vivos. La concentración de ion hidrógeno se mantiene de forma característica dentro de márgenes estrechos. Debido a que los amortiguadores se combinan con los iones H^+, ayudan a mantener relativamente constante la concentración de ion hidrógeno. La mayoría de los amortiguadores consta de un ácido débil y su base conjugada.
8. Varias propiedades físicas del agua líquida cambian cuando se disuelven moléculas de soluto. La más importante de éstas para los seres vivos es la presión osmótica, la presión que impide el flujo de agua a través de las membranas celulares.

LECTURAS RECOMENDADAS

Lang, F., Waldegger, S., Regulating Cell Volume, *Am. Sci.* 85:456-463, 1997.

Montgomery, R., Swenson, C. A., *Quantitative Problems in Biochemical Sciences*, 2.ª ed., W. A. Freeman, New York, 1976.

Pennisi, E., Water, Water Everywhere, *Sci. News* 143:121-125, 1993.

Rand, R. P., Raising Water to New Heights, *Science* 256:618, 1992.

Segel, I. H., *Biochemical Calculations*, 2.ª ed., John Wiley and Sons, New York, 1976.

Stewart, P. A., *How to Understand Acid-Base: A Quantitative Acid-Base Primer for Biology and Medicine*, Elsevier, New York, 1981.

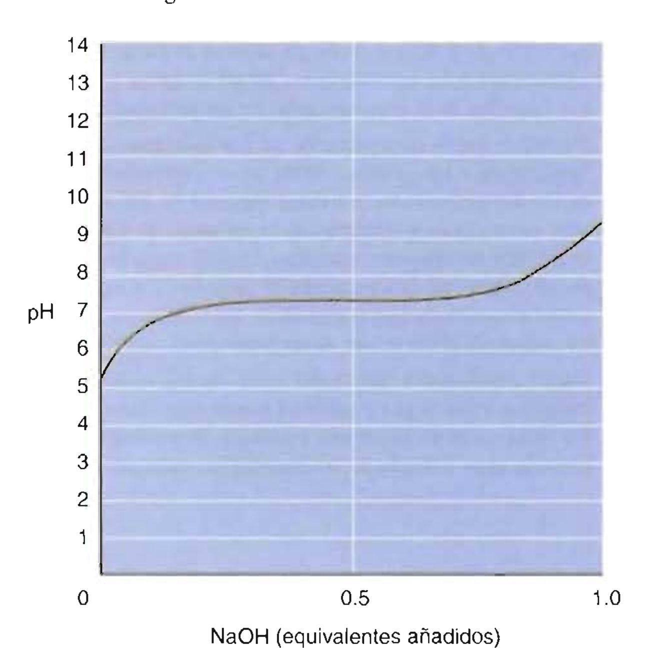
Stillinger, F. H., Water Revisited, *Science* 209:451-457, 1980.

Wiggins, P.M., Role of Water in Some Biological Prosesses, *Microbiol. Rev.* 54:432-449, 1990.

PALABRAS CLAVE

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuáles de los siguientes son pares ácido-base conjugada?
   a. H_2CO_3, CO_3^{2-}
   b. $H_2PO_4^-$, PO_4^{3-}
   c. HCO_3^-,CO_3^{2-}
   d. H_2O, OH^-
2. ¿Cuál es la concentración de ion hidrógeno en una disolución de pH 8.3?
3. Considere la curva de titulación siguiente. Calcule el intervalo eficaz de amortiguación.



4. Describa como prepararía un amortiguador fosfato 0.1 M con un pH de 7.2. ¿Qué cociente de sal a ácido utilizaría?
5. ¿Cuáles de los siguientes compuestos pueden formar enlaces de hidrógeno con moléculas semejantes o con el agua?

$CH_3—CH_2—C(=O)—O—CH_3$

(a)

$CH_3—C(=O)—N(H)—CH_3$

(b)

$CH_3—N(CH_3)—CH_3$

(c)

$CH_3—O—CH_2—O—H$

(d)

6. ¿Cuál es la osmolaridad de una disolución de fosfato sódico (Na_3PO_4) 1.3 M? Suponga una ionización de un 85 % para esta disolución.
7. ¿En qué dirección fluye el agua cuando se coloca una bolsa de diálisis que contiene una disolución 3 M del azúcar fructosa en cada una de las siguientes disoluciones?
   a. Lactato sódico 1 M
   b. Lactato sódico 3 M
   c. Lactato sódico 4.5 M

$CH_3—C(H)(OH)—C(=O)—O^-$ Na^+

8. ¿Qué interacción tiene lugar entre las siguientes moléculas e iones?
   a. agua y amoníaco
   b. lactato e ion amonio
   c. benceno y octano
   d. tetracloruro de carbono y cloroformo
   e. cloroformo y éter dietílico
9. Una disolución que contiene 56 mg de una proteína en 30 mL de agua destilada ejerce una presión osmótica de 0.01 atm a $T = 25$ °C. Determine el peso molecular de la proteína desconocida.
10. La tirosina es un aminoácido.

$H—O—C_6H_4—CH_2—CH(NH_2)—C(=O)—OH$

¿Qué átomos de esta molécula pueden formar enlaces de hidrógeno?

11. Defina brevemente los siguientes términos:
    a. enlace de hidrógeno
    b. pH
    c. amortiguador
    d. presión osmótica.
    e. osmolitos
    f. isotónico
    g. anfipático
    h. interacciones hidrófobas
    i. dipolo
    j. dipolo inducido
12. ¿Cuáles de las siguientes moléculas esperaría que tuviera un momento dipolar?
    a. CCl_4
    b. $CHCl_3$
    c. H_2O
    d. CH_3OCH_3
    e. CH_3CH_3
    f. H_2
13. ¿Cuáles de las siguientes moléculas esperaría que formara micelas?
    a. NaCl
    b. CH_3COOH
    c. $CH_3COO^-NH_4^+$
    d. $CH_3(CH_2)_{10}COO^-Na^+$
    e. $CH_3(CH_2)_{10}CH_3$

14. El bicarbonato es uno de los amortiguadores principales de la sangre, y el fosfato es el principal amortiguador de las células. Sugiera una razón por la que es cierta esta observación.
15. Describa cómo puede aumentar la capacidad amortiguadora de un amortiguador de acetato 0.1 M.
16. ¿Cuáles de las siguientes moléculas o iones son ácidos débiles?
    a. HCl
    b. $H_2PO_4^-$
    c. CH_3COOH
    d. HNO_3
    e. HSO_4^-
17. ¿Cuáles de las siguientes especies puede formar sistemas amortiguadores?
    a. $NH_4^+ Cl^-$
    b. CH_3COOH, HCl
    c. CH_3COOH, $CH_3COO^-Na^+$
    d. H_3PO_4, PO_4^{3-}
18. ¿Qué efecto tiene la hiperventilación sobre el pH?
19. ¿Cuál es la relación entre osmolaridad y molaridad?
20. ¿Es posible preparar un amortiguador formado sólo por ácido carbónico y carbonato sódico?
21. Calcule el cociente entre fosfato diácido/fosfato ácido en la sangre a pH 7.4. El pK_a es 6.3×10^{-8}.
22. Calcule el pH de una disolución preparada al mezclar 300 mL de ascorbato ácido de sodio 0.25 M y 150 mL de HCl 0.2 M. El pK_{a1} del ácido ascórbico es 5×10^{-5}.
23. ¿Cuál es el pH de una disolución que es 1×10^{-8} en HCl?

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Muchas frutas pueden conservarse caramelizándolas. La fruta se sumerge en una solución azucarada muy concentrada y luego se deja que cristalice el azúcar. ¿Cómo conserva el azúcar la fruta?
2. Explique por qué el hielo es menos denso que el agua. Si el hielo no fuera menos denso que el agua, ¿cómo verían afectados los océanos? ¿Cómo se vería afectado el desarrollo de la vida sobre la Tierra?
3. ¿Por qué no puede utilizarse el agua de mar por las plantas acuáticas?
4. Explique como se transportan al hígado los ácidos producidos en el metabolismo sin que se afecte mucho el pH de la sangre.
5. La escala de pH es válida sólo para el agua. ¿Por qué esto es así?
6. La gelatina es una mezcla de proteína y agua que es principalmente agua. Explique cómo se hace sólida la mezcla agua-proteína.
7. Muchas moléculas son polares, aunque no formen enlaces de hidrógeno significativos. ¿Qué tiene tan poco usual el agua que hace posible el enlace de hidrógeno?
8. Se ha descrito que el agua es el disolvente universal. Si esta declaración fuera estrictamente cierta, ¿podría haber surgido la vida en un medio acuoso? Explíquelo.
9. Los alcoholes (ROH) son estructuralmente semejantes al agua. ¿Por qué los alcoholes no son disolventes tan poderosos como el agua para los compuestos iónicos? (*Pista*: El metanol es un disolvente mejor para los compuestos iónicos que el propanol.)
10. Durante las situaciones agresivas, algunas células del cuerpo convierten el glucógeno en glucosa. ¿Qué efectos tiene esta conversión sobre el equilibrio osmótico celular? Explique cómo afrontan las células esta situación.
11. ¿Esperaría que un grupo ácido carboxílico dentro del interior sin agua de una proteína tuviera una K_a mayor o menor que si estuviera en la superficie de la proteína donde está hidratado?
12. La fuerza de las interacciones iónicas es más débil en agua que en un medio anhidro. Explique cómo debilita el agua estas interacciones.

CAPÍTULO CUATRO

Energía

SUMARIO



Transformación de la energía. El guepardo, el animal más rápido sobre la tierra, transforma la energía del enlace químico del alimento en la energía que sostiene sus procesos vivos.

Todos los seres vivos necesitan, de forma inexorable, energía. El flujo de energía que mantiene la vida sobre la tierra se origina en el sol, donde las reacciones termonucleares generan energía radiante. Una cantidad pequeña de la energía solar que llega a la tierra es captada por las plantas y determinados microorganismos. Durante la fotosíntesis, los organismos fotoautótrofos convierten la energía solar en energía de enlace químico de las moléculas de azúcar. Esta energía de enlace se utiliza para producir el enorme número de moléculas orgánicas que se encuentran en los seres vivos y para impulsar procesos como el transporte activo, la división celular, la endocitosis y la contracción muscular. Finalmente, la energía de enlace químico se convierte en calor, que luego se disipa al ambiente.

Todos los sucesos del universo, desde la colisión entre los átomos en los tubos de ensayo del laboratorio hasta las explosiones de las estrellas en el espacio profundo comportan energía. La energía del universo se encuentra en muchas formas interconvertibles: gravitatoria, nuclear, radiante, calorífica, mecánica, eléctrica y química. Sin embargo, a pesar de su importancia evidente, permanece esquiva una definición precisa de energía. De acuerdo con la teoría científica moderna, la energía es el constituyente básico del universo. La relación entre la materia y su energía equivalente está definida por la famosa ecuación de Einstein $E = mc^2$. La energía total (E) en julios (kg m^2/s^2) de una partícula es igual a la masa (m) en kilogramos de la partícula multiplicada por la velocidad de la luz ($c = 3.0 \times 10^8$ m/s) al cuadrado. Sin embargo, la energía se define habitualmente como la capacidad para realizar trabajo. El trabajo está organizado en movimiento molecular que implica el movimiento de un objeto producido por el uso de la fuerza. El trabajo celular lo realizan miles de máquinas moleculares. Cada máquina realiza repetitivamente una única tarea propulsada directamente o indirectamente por la energía proporcionada por la adenosina trifosfato (ATP). Entre los ejemplos característicos de trabajo en las células se encuentran la creación de gradientes de concentración a través de las membranas y la síntesis de biomoléculas. Los tipos más comunes de máquinas moleculares son las proteínas contráctiles, los complejos transportadores y las enzimas.

La investigación de las transformaciones energéticas que acompañan a los cambios físicos y químicos de la materia se denomina **termodinámica**. Los principios de la termodinámica se utilizan para evaluar el flujo y los intercambios de materia y energía. La **Bioenergética**, una rama de la termodinámica, estudia las transformaciones energéticas en los seres vivos. Es especialmente útil en la determinación de la dirección y la cuantía a la que se producen las reacciones bioquímicas específicas. Estas reacciones están afectadas por tres factores. Dos de éstos, la **entalpía** (contenido total de calor) y la **entropía** (desorden), están relacionados con la primera y segunda ley de la termodinámica, respectivamente. El tercer factor, que se denomina **energía libre** (energía disponible para realizar un trabajo químico), deriva de una relación matemática entre la entalpía y la entropía.

El capítulo comienza con una descripción breve de los conceptos termodinámicos y su relación con las reacciones bioquímicas. A continuación se realiza una revisión sobre la energía libre, una medida útil de la espontaneidad de las reacciones bioquímicas. El capítulo termina con una descripción de la estructura y la función del ATP y otros compuestos de energía elevada, y la descripción de una forma notable de generación de energía autótrofa que tiene lugar en el suelo del océano (Recuadro de interés especial 4.1). La consideración de las reacciones de oxidación-reducción (redox), el mecanismo primario de las células para generar energía, se deja para el Capítulo 9, donde se describen sus funciones en el metabolismo.

4.1. TERMODINÁMICA

El concepto moderno de energía es un invento de la Revolución Industrial. Las investigaciones sobre la relación entre el trabajo mecánico y el calor por los ingenieros, los físicos, los matemáticos, los fisiólogos y los médicos en el siglo XIX condujo finalmente al descubrimiento de un conjunto de reglas, denominadas *leyes de la termodinámica*, que describen las transformaciones energéticas. Las tres leyes de la termodinámica son las siguientes:

1. **Primera Ley de la Termodinámica**: La cantidad total de energía del universo es constante. La energía no puede crearse ni destruirse, sino que sólo puede transformarse de una forma en otra.
2. **Segunda Ley de la Termodinámica**: El desorden del universo aumenta siempre. En otras palabras, todos los procesos físicos y químicos sólo se producen espontáneamente cuando aumenta el desorden.
3. **Tercera Ley de la Termodinámica**: Al acercarse la temperatura de un cristal sólido perfecto al cero absoluto (0 K), el desorden se aproxima a cero.



FIGURA 4-1
Un universo termodinámico.
Un universo está formado por un sistema y su entorno.

Las dos primeras leyes son herramientas utilizadas por los bioquímicos para investigar las transformaciones energéticas de los sistemas vivos.

La Termodinámica trata de las transformaciones del calor y la energía. Se considera que esas transformaciones tienen lugar en un «universo» compuesto por un sistema y su entorno (Fig. 4-1). El sistema se define de acuerdo con el interés del investigador. Por ejemplo, puede definirse un sistema como un organismo entero o una única célula, o una reacción que tiene lugar en un recipiente. En un *sistema abierto* la materia y la energía se intercambia entre el sistema y su entorno. Si sólo puede intercambiarse energía con el entorno, el sistema se dice que es *cerrado*. Los seres vivos, que consumen nutrientes de su entorno y liberan a él productos de desecho, son sistemas abiertos.

El conocimiento de las funciones termodinámicas como la entalpía, la entropía y la energía libre permite a los bioquímicos predecir si un proceso es espontáneo (termodinámicamente favorable). Esto no indica que se producirá la reacción (es cinéticamente favorable), sino que puede tener lugar con un conjunto adecuado de condiciones. Las reacciones sólo son cinéticamente favorables cuando el sistema que experimenta el cambio dispone de energía suficiente.

Varias propiedades termodinámicas son funciones de estado. Los valores de las funciones de estado sólo dependen de sus estados inicial y final y son independientes del camino recorrido para ir desde el estado inicial al estado final. Por ejemplo, el contenido energético de una molécula de glucosa es el mismo con independencia de si se ha sintetizado mediante la fotosíntesis o por la degradación de la lactosa (azúcar de la leche). Sin embargo, la forma en que se distribuye la energía en una reacción no es fija, sino que está gobernada por el sistema o el camino que experimenta el cambio. Por ejemplo, las células utilizan parte de la energía de las moléculas de glucosa para realizar trabajo celular, como la contracción muscular. El resto se libera en forma de energía calorífica desordenada. El **trabajo** (el desplazamiento o movimiento de un objeto por una fuerza) y el calor no son funciones de estado; es decir, sus valores varían con el camino. Si la molécula de glucosa se quema en un recipiente de laboratorio, la reacción global es la misma, pero toda la energía de enlace químico de la glucosa se transforma directamente en calor y se realiza muy poco o ningún trabajo mensurable. El contenido energético de las moléculas de glucosa es el mismo en cada proceso, pero el trabajo realizado por cada proceso es diferente.

El intercambio de energía entre un sistema y su entorno sólo puede producirse de dos formas: El calor (q), movimiento molecular aleatorio, puede transferirse hacia el sistema o desde el sistema, o el sistema puede realizar trabajo (w) sobre su entorno o el entorno realizar trabajo sobre el sistema. La energía se transfiere en forma de calor cuando el sistema y su entorno tienen temperaturas diferentes. Cuando un sistema absorbe calor, q es un número positivo. Un valor negativo de q indica que un sistema ha perdido calor. La energía se transfiere en forma de trabajo cuando una fuerza mueve un objeto. Cuando w es positivo, el entorno realiza trabajo sobre el sistema. El trabajo del sistema sobre el entorno se señala por un valor negativo de w.

Primera Ley de la Termodinámica

La primera ley establece que la energía no puede crearse ni destruirse. En otras palabras, la cantidad total de energía de un sistema y su entorno, que se denomina energía interna (E), debe ser la misma antes y después de producirse un proceso. Cuando se está realizando trabajo y se está transfiriendo calor, la Primera Ley puede establecerse de la siguiente forma

$$\Delta E = q + w \tag{1}$$

donde ΔE = variación de energía del sistema
q = calor del entorno absorbido por el sistema
w = trabajo realizado por el entorno sobre el sistema

Los químicos han definido el término entalpía (H), que está relacionado con la energía interna, mediante la ecuación

$$H = E + PV \qquad (2)$$

donde PV = trabajo presión-volumen, es decir, el trabajo realizado sobre o por un sistema que supone variaciones de la presión y del volumen.

CONCEPTOS CLAVE 4.1

A presión constante, la variación de entalpía de un sistema ΔH es igual al flujo de energía calorífica. Si ΔH es negativa, la reacción o el proceso es exotérmico. Si ΔH es positiva, la reacción o el proceso es endotérmico. En los procesos isotérmicos no se intercambia calor con el entorno.

En los sistema bioquímicos en los que la presión es constante, las variaciones de entalpía (ΔH) son iguales al calor ganado o perdido por el sistema ($\Delta E = q$). Cuando la variación de volumen en este proceso es relativamente despreciable, como ocurre en las células, la variación de entalpía es esencialmente igual a la energía interna:

$$\Delta H = \Delta E \qquad (3)$$

Cuando ΔH es negativa ($\Delta H < 0$), la reacción o proceso desprende calor y se denomina **exotérmico**. Cuando ΔH es positiva ($\Delta H > 0$), se absorbe calor del entorno y ese proceso se llama **endotérmico**. En los procesos **isotérmicos** ($\Delta H = 0$), no se intercambia calor con el entorno.

La ecuación (3) indica que la variación de energía total de un sistema biológico es equivalente al calor producido o absorbido por el sistema. Dado que la entalpía de un reactante o producto es una función de estado (independiente del camino), puede utilizarse la variación de entalpía de cualquier reacción para calcular la ΔH de una reacción en la que participa esa sustancia. Si se conoce la suma de los valores de ΔH ($\Sigma\Delta H$) para los reactantes y los productos, puede calcularse la variación de entalpía de la reacción utilizando la siguiente ecuación:

$$\Delta H_{\text{reacción}} = \Sigma\Delta H_{\text{productos}} - \Sigma\Delta H_{\text{reactantes}} \qquad (4)$$

En los cálculos de la entalpía habitualmente se utiliza la formación de entalpía estándar por mol ΔH_f. H_f es la energía desprendida o absorbida cuando se forma 1 mol de una sustancia a partir de sus elementos más estables. Téngase en cuenta que la ecuación (4) no puede predecir la dirección de una reacción química. Sólo puede determinar el flujo de calor. Más abajo se muestra el cálculo de la entalpía de una reacción a presión constante.

PROBLEMA 4.1

Dados los valores siguientes de ΔH, calcule la ΔH de la reacción

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

	ΔH_f*	
	kcal†/mol	**kJ‡/mol**
$C_6H_{12}O_6$	−304.7	−1274.9
CO_2	−94.0	−393.3
H_2O	−68.4	−286.2
O_2	0	0

* H_f es la energía que se desprende al producirse un compuesto a partir de sus elementos.
† 1 kcal es la energía que se requiere para aumentar la temperatura de 1000 g de agua 1 °C.
‡ El julio (J) es una unidad de energía que está sustituyendo a la caloría (cal) en el uso científico. Una caloría es igual a 4.184 julios.

Solución

La entalpía total de una reacción es igual a la suma de la entalpía de los productos, menos la de los reactantes.

$$\begin{array}{ccccc} 6\,CO_2 & + & 6\,H_2O & \longrightarrow & C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \\ 6(-393.3) & + & 6(-286.2) & \longrightarrow & -1274.9 + 6(0) \\ -2359.8 & + & (-1717.2) & \longrightarrow & -1274.9 \end{array}$$

$$\Delta H = -1274.9 - (-4077.0) = 2802.1 \text{ kJ/mol}$$

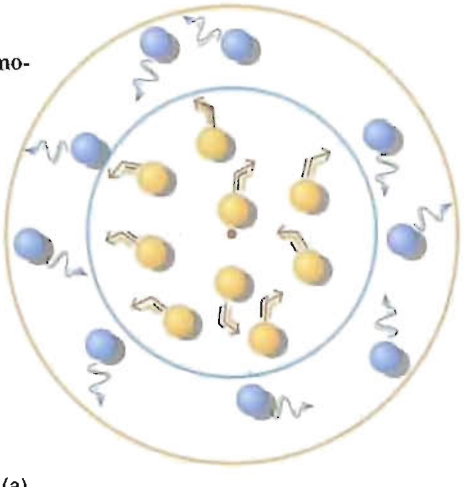
La ΔH positiva indica que la reacción es endotérmica.

Segunda Ley de la Termodinámica

La primera ley da cuenta de las variaciones de energía que pueden tener lugar durante un proceso, pero no puede utilizarse para predecir si el proceso se producirá y en qué cuantía. Parece evidente que en algunas circunstancias determinados procesos tengan lugar, por ejemplo, el comportamiento del hielo a temperatura ambiente, o la gasolina en una máquina de combustión interna. La experiencia nos dice que el hielo se funde a temperaturas por encima de 0 °C y que las moléculas de gasolina pueden convertirse en CO_2 y H_2O en presencia de oxígeno. Cuando se producen cambios físicos o químicos con liberación de energía se dice que esos cambios son **espontáneos**. Cuando se requiere un aporte constante de energía para mantener un cambio, se está produciendo un proceso no espontáneo. La experiencia nos dice que determinados procesos no se producirán: el hielo no se formará a temperaturas por encima de 0 °C, y las moléculas de gasolina no se forman a partir de los humos expulsados por un motor. En otras palabras, intuitivamente sabemos que hay una direccionalidad en estos procesos y que pueden realizarse con facilidad predicciones sobre su resultado. Cuando la experiencia no es suficiente para permitirnos hacer predicciones sobre la espontaneidad y dirección, debe utilizarse la segunda ley. De acuerdo con la segunda ley, todos los procesos espontáneos se producen en la dirección que incrementa el desorden total del universo (un sistema y su entorno) (Fig. 4-2). Como resultado de los procesos espontáneos, la materia y la energía se desorganizan más. Por ejemplo, las moléculas de gasolina son hidrocarburos en los que los átomos de carbono están unidos con una disposición ordenada. Cuando se quema la gasolina, los átomos de carbono en los productos gaseosos se encuentran dispersados aleatoriamente (Fig. 4-3). De forma análoga, la energía que se libera al quemarse la gasolina está más desordenada; se encuentra menos concentrada y es menos útil. En un motor de coche, el aumento de la presión del gas en los cilindros impulsa el pistón y hace que el coche se mueva. Cuando se comparan la energía química de las moléculas de gasolina y la energía cinética que mueve al coche, se hace notorio que una cantidad significativa de energía no realiza un trabajo útil, sino que se disipa hacia el entorno como atestiguan el motor caliente y los humos expulsados.

El grado de desorden de un sistema se mide por la función de estado denominada **entropía** (S). Cuanto más desordenado está un sistema, mayor es el valor de su entropía. De acuerdo con la Segunda Ley, la variación de entropía del universo es positiva para todos los procesos espontáneos. El aumento puede tener lugar en cualquier parte del universo (ΔS_{sis} o ΔS_{ent}):

$$\Delta S_{univ} = \Delta S_{sis} + \Delta S_{ent}$$


(a)

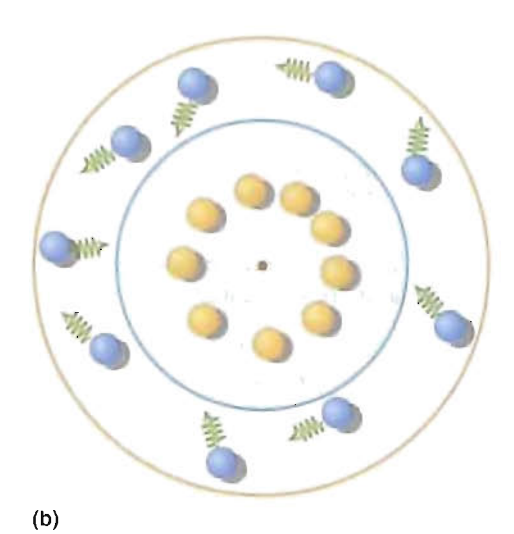

(b)

FIGURA 4-2

Una célula viva como un sistema termodinámico.

(a) Las moléculas de la célula y su entorno se encuentran en un estado relativamente desordenado. (b) Se libera calor por la célula como consecuencia de las reacciones que crean orden entre las moléculas del interior de la célula. Esta energía aumenta el movimiento aleatorio y, por lo tanto, el desorden de las moléculas fuera de la célula. El proceso produce una variación de entropía neta positiva. El descenso de entropía de la célula se compensa con creces por un aumento de la entropía del entorno.

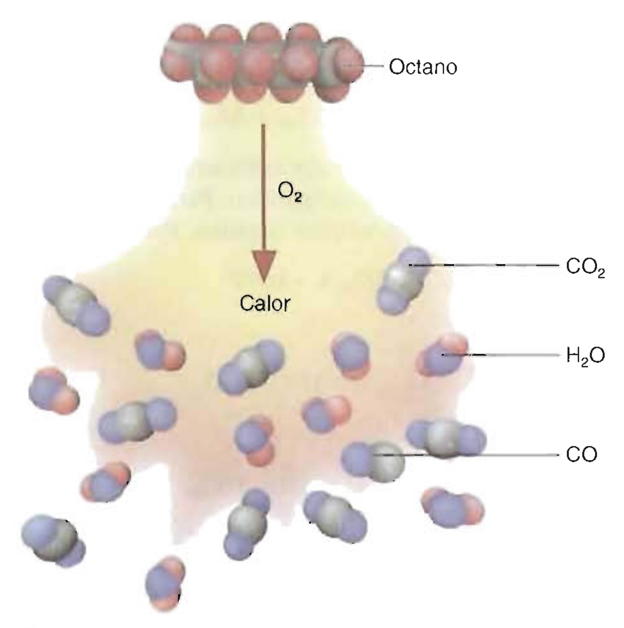


FIGURA 4-3

Combustión de la gasolina.

Cuando se queman hidrocarburos como el octano, la liberación de energía va acompañada por la conversión de moléculas de reactante muy ordenadas en productos gaseosos relativamente desordenados, como el CO_2 y el H_2O. Desgraciadamente, la combustión de la gasolina es ineficaz; es decir, también se liberan otras sustancias como la molécula venenosa monóxido de carbono (CO) que contaminan el ambiente.

Las células no incrementan su desorden interno cuando consumen y metabolizan los nutrientes. En cambio, el entorno del organismo aumenta su entropía. Por ejemplo, las moléculas de alimento que consumen los seres humanos para proporcionar la energía y el material estructural necesario para mantener sus cuerpos se convierten en un enorme número de productos de desecho desordenados (p. ej., CO_2, H_2O y calor) que se expulsan al entorno.

Aunque la entropía puede considerarse como una energía inestable, la formación de entropía no es una actividad inútil. En los procesos espontáneos, como la fusión del hielo y la combustión de la madera, la entropía siempre aumenta. Se dice que algunas reacciones están impulsadas por la entropía porque el aumento de entropía del sistema supera la ganancia de entalpía que produce una reacción espontánea. (Por definición, se producirá un proceso espontáneo. Sin embargo, la velocidad a la que tiene lugar puede ser muy rápida o muy lenta.) En los procesos irreversibles, que son los procesos que tienen lugar sólo en una dirección, se cree que la entropía es la fuerza impulsora. La entropía dirige a un sistema hacia el equilibrio con su entorno. Una vez que el proceso alcanza el equilibrio (es decir, no hay cambio neto en ninguna dirección), ya no hay ninguna fuerza que los impulse. Para predecir si un proceso es espontáneo, debe conocerse el signo de ΔS_{univ}. Por ejemplo, si el valor de ΔS_{univ} de un proceso es positivo (es decir, aumenta la entropía del universo), entonces el proceso es espontáneo. Si ΔS_{univ} es negativo, no se produce el proceso, sino que tiene lugar el proceso inverso. El proceso opuesto es espontáneo. Si ΔS_{univ} es igual a cero, no tiende a producirse ningún proceso. Los organismos que están en equilibrio con su entorno están muertos.

CONCEPTOS CLAVE 4.2

La Segunda Ley de la Termodinámica establece que el universo tiende a desorganizarse. El aumento de entropía puede tener lugar en cualquier parte del universo del sistema. Para los procesos de los seres vivos, el aumento de entropía tiene lugar en sus entornos.

4.2. ENERGÍA LIBRE

Aunque la entropía del universo siempre aumenta en un proceso espontáneo, su medida es poco práctica debido a que deben conocerse tanto ΔS_{sis} como ΔS_{ent}. Una

función termodinámica más adecuada para predecir la espontaneidad de un proceso es la **energía libre**, que puede obtenerse a partir de la expresión de ΔS_{univ},

$$\Delta S_{univ} = \Delta S_{ent} + \Delta S_{sis}$$

La ΔS_{ent} se define como la cantidad de calor intercambiado por K de temperatura en el curso de un cambio físico o químico específico. Para una reacción exotérmica, se libera calor y el valor de ΔS es un número negativo. Por lo tanto,

$$\Delta S_{ent} = -\Delta H/T$$

Sustituyendo

$$\Delta S_{univ} = -\Delta H/T + \Delta S_{sis}$$

Multiplicando ambos lados por $-T$:

$$-T\Delta S_{univ} = \Delta H - T\Delta S_{sis}$$

Josiah Gibbs definió $-T\Delta S_{univ}$ como la función de estado denominada *variación de energía libre de Gibbs* o ΔG:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S_{sis}$$

La variación de la energía libre es negativa cuando ΔS_{univ} es negativa, lo cual refleja una reacción espontánea, que se dice es **exergónica** (Fig. 4-4). Si ΔG es positiva, se dice que el proceso es **endergónico** (no espontáneo). Cuando ΔG es cero, el proceso se encuentra en equilibrio. Como con otras funciones termodinámicas, ΔG no proporciona información sobre las velocidades de reacción. Las velocidades de reacción dependen del mecanismo preciso por el que se produce un proceso y se tratan con el estudio de la cinética (Capítulo 6).

Variaciones de la energía libre estándar

Un convenio conocido como *estado estándar* proporciona una base uniforme para los cálculos de la energía libre. Se define la energía libre estándar, $\Delta G°$, para las reacciones a 25 °C (298 K) y 1 atm de presión con todos los solutos a una concentración de 1.0 M.

La variación de energía libre estándar está relacionada con la constante de equilibrio de la reacción, K_{eq}, el valor del cociente de la reacción en el equilibrio cuando las velocidades de las reacciones en sentido directo e inverso son iguales.

La variación de energía libre de la reacción

$$aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$$

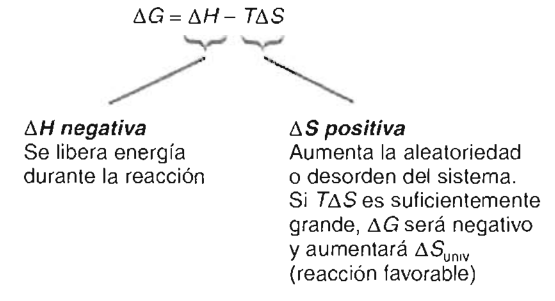


FIGURA 4-4

Ecuación de la energía libre de Gibbs.

A presión constante, la entalpía (H) es esencialmente igual al contenido total de energía del sistema. Un proceso es espontáneo cuando disminuye su energía libre. Las variaciones de energía libre ΔG son negativas si disminuye la entalpía o si el término de entropía $T\Delta S$ es suficientemente grande.

está relacionada con la constante de equilibrio de la reacción:

$$K_{eq} = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

De acuerdo con la observación de que la energía libre de un gas ideal es independiente de su presión (concentración) y de que la función de estado G puede manejarse de forma análoga a la función de estado H, se obtiene la ecuación siguiente:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

Si se permite que la reacción vaya hasta el equilibrio, ΔG = 0 y la expresión se reduce a

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

Esta ecuación permite el cálculo de ΔG° si se conoce K_{eq}. Dado que muchas reacciones bioquímicas tienen lugar a pH 7 o en sus cercanías ($[H^+] = 1.0 \times 10^{-7}$ M), se hace esta excepción en la regla de concentración de soluto 1.0 M de la bioenergética y la variación de energía libre se expresa como $\Delta G^{\circ\prime}$. El Problema 4.2 trata sobre la energía libre.

PROBLEMA 4.2

Para la reacción $HC_2H_3O_2 \rightleftharpoons C_2H_3O_2^- + H^+$, calcule ΔG° y $\Delta G^{\circ\prime}$. Suponga que $T = 25$ °C. La constante de ionización del ácido acético es 1.8×10^{-5}. ¿Es esta reacción espontánea? Recuerde que

$$K_{eq} = \frac{[C_2H_3O_2^-][H^+]}{[HC_2H_3O_2]}$$

Solución

1. Cálculo de ΔG°.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq} = -(8.315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K}) \ln (1.8 \times 10^{-5}) =$$

$$= 27\,071 \text{ J} = 27.1 \text{ kJ/mol}$$

La ΔG° indica que en estas condiciones la reacción no es espontánea.

2. Cálculo de $\Delta G^{\circ\prime}$. Utilice la relación entre la variación de energía libre y la variación de energía libre estándar.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

Para este ejemplo la expresión es

$$\Delta G^{\circ\prime} = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C_2H_3O_2^-][H^+]}{[HC_2H_3O_2]}$$

Recuerde que en condiciones estándar, [acetato] y [ácido acético] ambas son 1 M. Sustituyendo estos valores tenemos

$$\Delta G^{\circ\prime} = 27\,071 \text{ J/mol} + (8.315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K})(\ln 10^{-7}) =$$

$$= 27\,017 - 39\,939 = -12867.54 = 12.9 \text{ kJ/mol}$$

En las condiciones especificadas para ΔG° (es decir, concentraciones 1 M para todos los reactantes, incluido el H^+) la ionización del ácido acético no es espontánea, como señala la ΔG°. Sin embargo, cuando el valor de pH es 7, la reacción se hace espontánea. Un valor bajo de $[H^+]$ hace a la ionización de un ácido débil, como el ácido acético, un proceso más probable, como indica el valor negativo de $\Delta G^{\circ\prime}$.

CONCEPTOS CLAVE 4.3

La energía libre es una función termodinámica que predice la espontaneidad de un proceso. Las reacciones espontáneas son exergónicas. Las reacciones no espontáneas son endergónicas.

Reacciones acopladas

Muchas reacciones químicas dentro de los seres vivos poseen valores positivos de $\Delta G^{\circ\prime}$. Afortunadamente, los valores de energía libre son aditivos en cualquier secuencia de reacciones.

$$A + B \rightleftharpoons C + D \qquad \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 1}} \qquad (1)$$

$$C + E \rightleftharpoons F + G \qquad \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 2}} \qquad (2)$$

$$A + B + C \rightleftharpoons D + F + G \quad \Delta G^{\circ\prime}_{\text{global}} = \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 1}} + \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 2}} \qquad (3)$$

Obsérvese que las reacciones (1) y (2) tienen un intermediario común, *C*. Si el valor neto de $\Delta G^{\circ\prime}$ ($\Delta G^{\circ\prime}_{\text{global}}$) es suficientemente negativo, la formación de los productos *F* y *G* es un proceso exergónico.

La conversión de la glucosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato ilustra el principio de las reacciones acopladas (Fig. 4-5). El intermediario común en esta secuencia de reacción es la fructosa-6-fosfato. Dado que la formación de fructosa-6-fosfato a partir de glucosa-6-fosfato es endergónica ($\Delta G^{\circ\prime}$ es +1.7 kJ/mol), no se espera que la reacción se produzca tal y como está escrita (al menos en las condiciones estándar). La conversión de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato es fuertemente exergónica, ya que está acoplada a la rotura del enlace fosfoanhídrido del ATP. (La rotura del enlace fosfoanhídrido del ATP para formar ADP proporciona aproximadamente −30.5 kJ/mol. El ATP en los seres vivos se trata en la Sección 4.3.) Dado que $\Delta G^{\circ\prime}_{\text{global}}$ para las reacciones acopladas es negativa, las reacciones tienen lugar en la dirección escrita en las condiciones estándar.

PROBLEMA 4.3

El glucógeno se sintetiza a partir de la glucosa-1-fosfato. Para incorporarse al glucógeno, la glucosa-1-fosfato se convierte en un derivado del nucleótido uridina difosfato (UDP). El UDP sirve como un grupo de salida excelente en la reacción de condensación para formar el polímero glucógeno. La reacción es

$$\text{Glucosa-1-fosfato} + \text{UTP} \longrightarrow \text{UDP-glucosa} + \text{PP}_i$$

Si el valor de $\Delta G^{\circ\prime}$ para esta reacción es aproximadamente cero, ¿es favorable esta reacción? Si el PP_i (pirofosfato) se hidroliza,

$$\text{PP}_i + H_2O \longrightarrow 2\ \text{P}_i$$

La pérdida de energía libre ($\Delta G^{\circ\prime}$) es −33.5 kJ. ¿Cómo afecta esta segunda reacción a la primera? ¿Cuál es la reacción global? Determine el valor de $\Delta G^{\circ\prime}_{\text{global}}$.

Solución

La reacción global es

$$\text{Glucosa-fosfato} + \text{UTP} \longrightarrow \text{UDP-glucosa} + 2\ \text{P}_i$$

$$\Delta G^{\circ\prime}_{\text{global}} = \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 1}} + \Delta G^{\circ\prime}_{\text{reacción 2}} = 0 + (-33.5\ \text{kJ}) = -33.5\ \text{kJ}$$

La hidrólisis del PP_i impulsa la formación de UDP-glucosa hacia la derecha.

PREGUNTA 4.1

Dentro de las células las concentraciones de ATP y de los productos de su hidrólisis (ADP y P_i) son significativamente menores que las concentraciones estándar 1 M. Por lo tanto, el valor real de la energía libre de hidrólisis del ATP ($\Delta G'$) es distinto del valor de la energía libre estándar (ΔG°). Desafortunadamente, es difícil obtener una medida exacta de las concentraciones de los componentes celulares. Por esta razón, sólo pueden hacerse cálculos. La ecuación siguiente incluye una corrección para las concentraciones no estándar:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ\prime} + RT \ln \frac{[\text{ADP}][\text{P}_i]}{[\text{ATP}]}$$

Glucosa-6-fosfato $\Delta G^{\circ\prime}$ = 1.7 kJ/mol(+0.4 kcal/mol) Fructosa-6-fosfato $\Delta G^{\circ\prime}$ = −14.2 kJ/mol(−3.4 kcal/mol) ATP ADP + H^+ Fructosa-1,6-bisfosfato

FIGURA 4-5

Una reacción acoplada.

El valor neto de $\Delta G^{\circ\prime}$ para las dos reacciones es −12.6 kJ/mol (−3.0 kcal/mol).

La temperatura es 37 °C. Suponga que el pH es 7. Calcule la energía libre de hidrólisis del ATP si las concentraciones (mM) dentro de una célula hepática son las siguientes:

ATP = 4.0 ADP = 1.35 P_i = 4.65

$$\Delta G^{\circ\prime} = -30.5 \text{ kJ/mol}$$

Nueva visita al efecto hidrófobo

El entendimiento de la agregación espontánea de las sustancias apolares en agua se facilita cuando se consideran los principios de la termodinámica. Cuando las moléculas apolares se mezclan con agua, rompen las interacciones de los enlaces de hidrógeno favorables desde el punto de vista energético. Las moléculas de agua forman entonces estructuras muy ordenadas, semejantes a cajas, alrededor de cada molécula apolar. Los enlaces de hidrógeno que estabilizan estas estructuras restringen el movimiento de las moléculas de agua, dando lugar a un descenso de la entropía. Como consecuencia, la energía libre de la disolución de las moléculas apolares es desfavorable (es decir, ΔG es positiva como consecuencia de que ΔH es positiva y $T\Delta S$ es muy positiva). Sin embargo, el descenso de entropía es proporcional al área de contacto entre las moléculas apolares y el agua. La agregación de las moléculas apolares disminuye de forma significativa el área de su contacto con el agua y, por lo tanto, el agua queda menos ordenada (es decir, la variación de entropía, ΔS, es ahora positiva). Dado que $-T\Delta S$ se hace negativa, la energía libre del proceso es negativa y, por lo tanto, se produce de forma espontánea.

4.3 FUNCIÓN DEL ATP

El adenosina trifosfato (ATP) desempeña una función extraordinariamente importante dentro de las células. La hidrólisis del ATP (Fig. 4-6) proporciona de forma inmediata y directa la energía libre para impulsar una variedad inmensa de reacciones bioquímicas endergónicas. Producido a partir del ADP y el P_i con la energía liberada por la degradación de las moléculas del alimento y las reacciones luminosas

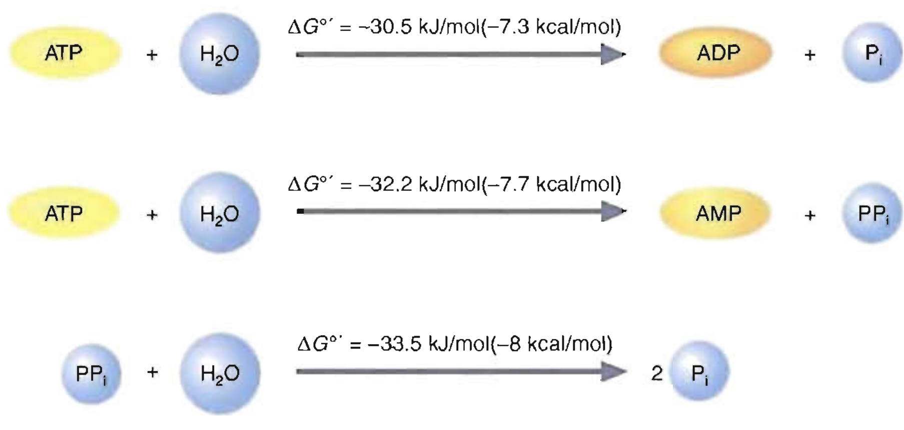


FIGURA 4-6

Hidrólisis del ATP.

El ATP puede hidrolizarse para formar ADP y P_i (ortofosfato) o AMP (adenosina monofosfato) y PP_i (pirofosfato). El pirofosfato puede a continuación hidrolizarse a ortofosfato, liberando más energía libre. La hidrólisis del ATP para formar AMP y pirofosfato se utiliza frecuentemente para impulsar reacciones con valores de $\Delta G°'$ positivos elevados, o para asegurar que una reacción procede hasta completarse.

de la fotosíntesis, el ATP impulsa varias clases de procesos (Fig. 4-7), entre los que se encuentran (1) la biosíntesis de macromoléculas, (2) el transporte activo de sustancias a través de las membranas celulares y (3) el trabajo mecánico, como la contracción muscular.

El ATP está adecuado de forma ideal para su función como moneda de intercambio universal debido a su estructura. El ATP es un nucleótido formado por adenina, ribosa y una unidad trifosfato (Fig. 4-8). Los dos grupos fosforilo terminales ($-PO_3^{2-}$) están unidos mediante enlaces fosfoanhídrido. Aunque los anhídridos son fácilmente hidrolizables, los enlaces fosfoanhídrido del ATP son suficientemente estables en condiciones intracelulares suaves. Existen enzimas específicas que facilitan la hidrólisis del ATP.

La tendencia del ATP a hidrolizarse, que también se denomina **potencial de transferencia de grupo**, no es singular. Diversas biomoléculas pueden transferir grupos fosfato a otros compuestos. En el Cuadro 4-1 se dan varios ejemplos impor-

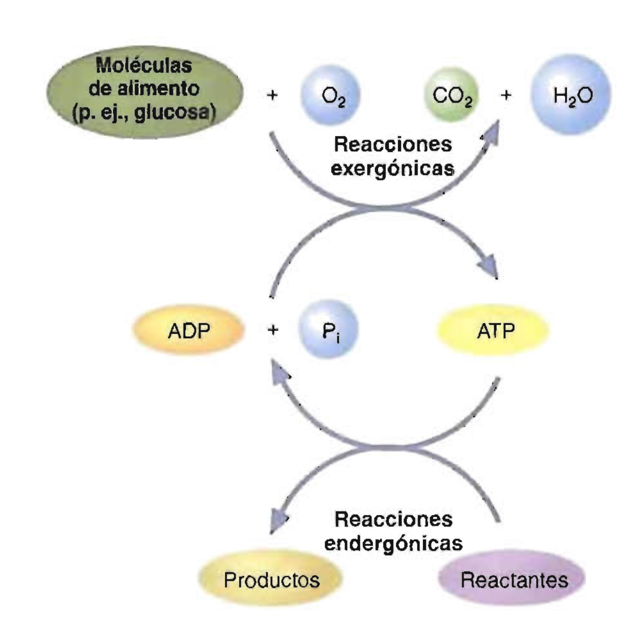


FIGURA 4-7

Función del ATP.

El ATP es un intermediario en el flujo de energía desde las moléculas de alimento a las reacciones de biosíntesis del metabolismo.

Enlaces fosfoanhídrido

Enlaces fosfodiéster

Adenosina

Adenosina monofosfato (AMP)

Adenosina difosfato (ADP)

Adenosina trifosfato (ATP)

FIGURA 4-8
Estructura del ATP.
El símbolo (~) en el ATP indica que los enlaces se hidrolizan con facilidad.

tantes. Los compuestos fosforilados con valores de hidrólisis $\Delta G^{\circ\prime}$ negativos elevados poseen potenciales de transferencia de grupo fosfato más elevados que aquellos compuestos con valores negativos más pequeños. Dado que el ATP tiene un potencial de transferencia de grupo fosfato intermedio, puede ser un transportador intermedio de grupos fosforilo desde los compuestos de energía más elevada, como el fosfoenolpiruvato, a los compuestos de energía baja (Fig. 4-9). Por lo tanto, el ATP es la «moneda de intercambio» para los sistemas vivos, debido a que las células normalmente transfieren el fosfato acoplando las reacciones a la hidrólisis del ATP. Los dos enlaces fosfoanhídrido del ATP con frecuencia se denominan de «energía elevada». Sin embargo, el término *enlace de energía elevada* actualmente se considera incorrecto. El término denota inestabilidad del enlace y, por lo tanto, su capacidad para participar en reacciones más que el valor cuantitativo de la energía del enlace. Para entender por qué la hidrólisis del ATP es tan exergónica, deben considerarse varios factores.

CUADRO 4-1
Energía libre estándar de la hidrólisis de biomoléculas fosforiladas seleccionadas

Molécula	$\Delta G^{\circ\prime}$	
	kcal/mol	**kJ/mol**
Glucosa-6-fosfato	−3.3	−13.8
Fructosa-6-fosfato	−3.8	−15.9
Glucosa-1-fosfato	−5	−20.9
ATP ⟶ ADP + P_i	−7.3	−30.5
ATP ⟶ AMP + PP_i	−7.7	−33.5
PP_i	−8.0	−33.5
Fosfocreatina	−10.3	−43.1
Glicerato-1,3-bisfosfato	−11.8	−49.4
Carbamoil fosfato	−12.3	−51.5
Fosfoenolpiruvato	−14.8	−61.9

Fosfoenolpiruvato + ADP → Piruvato + ATP

(a)

Glucosa + ATP → Glucosa-6-fosfato + ADP

(b)

FIGURA 4-9

Transferencia de grupos fosforilo.

(a) Transferencia de un grupo fosforilo desde el fosfoenolpiruvato al ADP. Tal como se considera en el Capítulo 8, esta reacción es uno de los dos pasos que forman ATP durante la glucólisis, una ruta de reacciones que degrada la glucosa. (b) Transferencia de un grupo fosforilo desde el ATP a la glucosa. El producto de esta reacción, la glucosa-6-fosfato, es el primer intermediario que se forma durante la glucólisis.

CONCEPTOS CLAVE 4.4

La hidrólisis del ATP proporciona inmediatamente y directamente la energía libre que impulsa una gran variedad de reacciones bioquímicas endergónicas. Dado que el ATP posee un potencial de transferencia de grupo fosfato intermedio, puede transportar grupos fosforilo desde compuestos con mayor energía a compuestos con menor energía. El ATP es la moneda de intercambio energético de los sistemas vivos.

1. A los valores característicos de pH intracelular, la unidad trifosfato del ATP lleva tres o cuatro cargas negativas que se repelen entre ellas. La hidrólisis del ATP reduce la repulsión electrostática.
2. Debido a la *hibridación de resonancia*, los productos de la hidrólisis del ATP son más estables que el ATP. Cuando una molécula tiene dos o más estructuras alternativas que sólo se diferencian en la posición de los electrones, el resultado se denomina **híbrido de resonancia**. Los electrones en un híbrido de resonancia con varias estructuras contribuyentes poseen mucha menos energía que aquellos con menos estructuras contribuyentes. En la Figura 4-10 se ilustran las estructuras contribuyentes del híbrido de resonancia fosfato.

FIGURA 4-10

Estructuras que contribuyen al híbrido de resonancia del fosfato.

A pH fisiológico, el ortofosfato es HPO_4^{2-}. En esta figura, H^+ no está asignado de forma permanente a ninguno de los cuatro átomos de oxígeno.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 4.1. Redox en las profundidades

Los seres vivos utilizan las reacciones redox (la adición o eliminación de los electrones de moléculas o partes de moléculas, véase la pág. 19) como los medios más importantes por los que captan energía de las distintas fuentes de energía y su entorno, y la convierten en la energía de enlace químico de las biomoléculas. Los organismos se clasifican de acuerdo con la fuente energética que explotan y las reacciones redox que utilizan en los mecanismos generadores de energía.

La mayoría de los organismos autótrofos («que se alimentan a sí mismos») atrapan la energía luminosa en la fotosíntesis. (Los organismos fotosintetizadores, que se denominan *fotoautótrofos*, son las plantas verdes, las algas y las cianobactetias.) Un pequeño grupo de especies bacterianas utiliza reacciones inorgánicas específicas para generar la energía que impulse sus procesos metabólicos. Estos organismos se denominan **litótrofos** o **quimiolitótrofos** (*lithos* = piedra). Los quimiolitótrofos que se encuentran en un conjunto diverso de hábitat, como el suelo y las aguas dulces y marinas, reciclan los elementos en la Biosfera. Por ejemplo, las bacterias nitrificantes convierten el amoníaco y los nitritos en nitratos. Las bacterias nitrificantes contribuyen a la fertilidad de los suelos como un componente importante del ciclo del nitrógeno.

En 1977, unos científicos descubrieron un hábitat nuevo e inesperado en el Océano Pacífico al noroeste de las Islas Galápagos. En áreas que rodean manantiales calientes submarinos, se encontró un gran número de especies previamente desconocidas que vivían en la oscuridad total. En otros hábitat marinos y terrestres los fotoautótrofos producen la mayoría de la alimentación orgánica requerida para mantener la vida animal. Sin embargo, estos manantiales calientes, a 2600 m por debajo de la superficie del océano, están rebosantes de vida. Dos ejemplos especialmente destacados son la almeja blanca gigante (*Calyptogena magnifica*) y el gusano tubo gigante (*Riftia pachyptila*).

¿Qué condiciones podrían explicar estos oasis oceánicos? Los investigadores han inspeccionado más los manantiales calientes, denominados *respiraderos* o *calderas hidrotérmicas*, donde se vierten a través de fisuras en el suelo marino columnas de agua caliente oscuras, nubosas y cargadas de minerales. (El agua fría se filtra hacia abajo a través de grietas de la corteza terrestre y se calienta por lava líquida. Posteriormente, al forzarse hacia arriba, el agua hidrotérmica se mezcla con el agua del mar haciendo que precipite el mineral para formar esas creaciones, las estructuras en forma de chimenea denominadas *fumaderos negros*.) El agua en los manantiales calientes tiene abundante ácido sulfhídrico (H_2S). (En el calor extremo y la presión profunda dentro de la corteza, el sulfato se reduce para formar el enlace H—S de energía elevada.) El agua que rodea las aberturas contiene grandes cantidades de bacterias sulfúreas, que generan energía oxidando H_2S. Estos organismos son el principal alimento orgánico para la comunidad de las aberturas hidrotérmicas. Al oxidar el H_2S para formar H_2SO_4, las bacterias utilizan la energía del interior de la tierra capturada por la formación de H_2S para convertir el CO_2 en nutrientes orgánicos.

Para beneficiarse de este proceso, varios animales de las aberturas han establecido relaciones endosimbióticas con las bacterias sulfúreas. (Véase el Recuadro de interés especial 2.1 donde se considera la endosimbiosis.) Uno de los ejemplos más investigado es *R. pachyptila*. El gusano tubo gigante, que consta principalmente de un saco largo y delgado unido a una agalla emplumada, no tiene ni boca ni tubo digestivo. Las moléculas de H_2S, O_2 y algo de CO_2 se absorben a través de la agalla emplumada y se transportan a los tejidos a través de la sangre unida a la proteína transportadora hemoglobina. El trofosoma, el lugar de las reacciones redox (generadoras de energía) es el órgano más destacado del animal. Está colonizado por un gran número de bacterias que oxidan azufre. A cambio de un aporte continuo de H_2S, O_2 y CO_2 proporcionado por el sistema circulatorio del gusano tubo, las bacterias sulfurosas proporcionan los nutrientes orgánicos que necesita el crecimiento y desarrollo del gusano.

3. Los productos hidrolizados del ATP, bien el ADP y el P_i, o bien el AMP y el PP_i, se solvatan con más facilidad que el ATP. Recuerde que las moléculas de agua que forman las esferas de solvatación alrededor de los iones los protegen uno del otro. La disminución resultante de la fuerza de repulsión entre los grupos fosfato impulsa la reacción hidrolítica.

PREGUNTA 4.2

Caminar consume aproximadamente 65 kcal/km. Para la hidrólisis del ATP (ATP ⟶ ADP + P_i), la reacción que impulsa la contracción muscular, $\Delta G^{\circ\prime}$ es −7.3 kcal/mol (−30.5 kJ/mol). Calcule cuantos gramos de ATP deben producirse para caminar un kilómetro. La síntesis de ATP está acoplada a la oxidación de la glucosa ($\Delta G^{\circ\prime} = -686$ kcal/mol). ¿Cuántos gramos de glucosa se metabolizan realmente para producir esta cantidad de ATP? (Suponga que sólo se utiliza la oxidación de la glucosa para generar ATP y que se emplea el 40 % de la energía generada en este proceso para fosforilar el ADP. El peso molecular de la glucosa es 180 g y el del ATP 507 g.)

RESUMEN

1. Todos los seres vivos necesariamente requieren energía. Por medio de la Bioenergética, el estudio de las transformaciones energéticas, puede determinarse la dirección y la cuantía a las que se producen las reacciones bioquímicas. La entalpía (una medida del contenido de calor) y la entropía (una medida del desorden) están relacionadas, respectivamente, con las leyes primera y segunda de la termodinámica. La energía libre (porción de la energía total que está disponible para realizar trabajo) está relacionada con una relación matemática entre la entalpía y la entropía.
2. Las transformaciones energéticas y caloríficas tienen lugar en un «universo» formado por un sistema y su entorno. En un sistema abierto, entre el sistema y su entorno se intercambian materia y energía. Si puede intercambiarse con el entorno energía pero no materia, se dice que el sistema es cerrado. Los seres vivos son sistemas abiertos.
3. Varias magnitudes termodinámicas son funciones de estado; es decir, su valor no depende del camino utilizado para hacer o degradar una sustancia específica. Ejemplos de funciones de estado son la energía total, la energía libre, la entalpía y la entropía. Algunas magnitudes como el trabajo y el calor no son funciones de estado, ya que dependen del camino.
4. La energía libre, una función de estado que relaciona la primera y la segunda ley de la termodinámica, representa el trabajo útil máximo que puede obtenerse de un proceso. Los procesos exergónicos, es decir, los procesos en los que disminuye la energía libre ($\Delta G < 0$), son espontáneos. Si la variación de energía libre es positiva ($\Delta G > 0$), el proceso se denomina endergónico. Un sistema se encuentra en equilibrio cuando la variación de energía libre es cero. La energía libre estándar ($\Delta G°$) se define para las reacciones a 25 °C, 1 atm de presión y concentraciones de soluto 1 M. El pH estándar en bioenergética es 7. En este libro se utiliza la variación de energía libre estándar $\Delta G°'$ a pH 7.
5. La hidrólisis del ATP proporciona la mayor parte de la energía libre que requieren los procesos vivos. El ATP está perfectamente adecuado para su función como moneda universal de intercambio de energía, dado que su estructura fosfoanhídrido se hidroliza fácilmente.

LECTURAS RECOMENDADAS

Bergethon, P. R., *The Physical Basis of Biochemistry: The Foundations of Molecular Biophysics*, Springer, New York, 1998.

Hanson, R. W., The Role of ATP in Metabolism, *Biochem. Educ.* 17:86-92, 1989.

Harold, F. M., *The Vital Force: A Study of Bioenergetics*, W. H. Freeman, New York, 1986.

Ho, M. W., *The Rainbow and the Worm: The Physics of Organisms*, World Scientific Publishing, Singapore, 1993.

Schrödinger, E., *What Is Life?*, Cambridge University Press, Cambridge, England, 1944.

PALABRAS CLAVE

bioenergética, *93*
cambios espontáneos, *96*
energía libre, *93, 98*
entalpía, *93*
entropía, *93, 96*
híbrido de resonancia, *104*
litótrofos, *105*
potencial de transferencia de grupo fosfato, *102*
proceso endergónico, *98*
proceso exergónico, *98*
quimiolitótrofos, *105*
reacción endotérmica, *95*
reacción exotérmica, *95*
reacción isotérmica, *95*
termodinámica, *93*
trabajo, *93*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina cada uno de los siguientes términos:
   a. termodinámica
   b. endergónico
   c. entalpía
   d. energía libre
   e. enlace de energía elevada
   f. reacción redox
   g. quimiolitótrofo
   h. potencial de transferencia de grupo fosfato
2. ¿Cuáles de las siguientes magnitudes termodinámicas son funciones de estado? Explíquelo.
   a. trabajo
   b. entropía
   c. entalpía
   d. energía libre
3. ¿Cuáles de las siguientes reacciones podría ser impulsada por acoplamiento con la hidrólisis del ATP? (El valor de $\Delta G°'$ en kJ/mol para cada reacción está indicado en paréntesis.)

   $$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i \ (-30.5)$$

   a. glucosa-1-fosfato ⟶ glucosa-6-fosfato (−7.1)
   b. glucosa + P_i ⟶ glucosa-6-fosfato (+13.8)
   c. ácido acético ⟶ anhídrido acético (+99.6)
   d. glucosa + fructosa ⟶ sacarosa (+29.3)
   e. glicilglicina + agua ⟶ 2 glicina (−9.2)
4. La K_a para la ionización del ácido fórmico es 1.8×10^{-4}. Calcule la $\Delta G°$ para esta reacción a 25 °C.
5. La siguiente reacción está catalizada por la enzima glutamina sintetasa:

   $$ATP + glutamato + NH_3 \longrightarrow ADP + P_i + glutamina$$

Utilice las siguientes ecuaciones con los valores de $\Delta G^{\circ\prime}$dados en kJ/mol para calcular el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la reacción global.

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i\ (-30.5)$$

$$\text{Glutamina} + H_2O \longrightarrow \text{glutamato} + NH_3\ (-5.0)$$

6. En paréntesis se indican los valores de $\Delta G^{\circ\prime}$ (kJ/mol) para las siguientes reacciones.

Acetato de etilo + agua ⟶ alcohol etílico + ácido acético (−19.7) (i)

Glucosa-6-fosfato + agua ⟶ Glucosa + P_i (−13.8) (ii)

¿Qué afirmaciones son verdaderas?
   a. La velocidad de la reacción (i) es mayor que la velocidad de la reacción (ii).
   b. La velocidad de la reacción (ii) es mayor que la velocidad de la reacción (i).
   c. Ninguna de las reacciones es espontánea.
   d. No pueden determinarse las velocidades de reacción a partir de los valores de la energía.

7. En condiciones estándar, ¿Cuáles de las afirmaciones son verdaderas?
   a. $\Delta G = \Delta G^\circ$
   b. $\Delta H = \Delta G$
   c. $\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K_{eq}$
   d. $\Delta G^\circ = \Delta H - T\Delta S$
   e. P = 1 atm
   f. T = 273 K
   g. [reactantes] = [productos] = 1 molar

8. ¿Qué afirmaciones con relación a la variación de energía libre son verdaderas?
   a. La variación de energía libre es una medida de la velocidad de una reacción.
   b. La variación de energía libre es una medida de la cantidad máxima de trabajo disponible en una reacción.
   c. La variación de energía libre es constante para una reacción en cualquier condición.
   d. La variación de energía libre está relacionada con la constante para una reacción específica.
   e. La variación de energía libre es igual a cero en el equilibrio

9. Considere la siguiente reacción:

$$\text{Glucosa-1-fosfato} \longrightarrow \text{glucosa-6-fosfato}$$
$$\Delta G^\circ = -7.1\ \text{kJ/mol}$$

¿Cuál es la constante de equilibrio de esta reacción a 25 °C?

10. ¿Cuál de los siguientes compuestos esperaría liberase al hidrolizarse la menor energía libre? Explíquelo.
   a. ATP
   b. ADP
   c. AMP
   d. Fosfoenolpiruvato
   e. Fosfocreatina

11. ¿Qué afirmaciones son verdaderas y cuáles son falsas?
   a. En un sistema cerrado, no se intercambia con el entorno ni materia ni energía.
   b. Las funciones de estado son independientes del camino.
   c. Un proceso es isotérmico si $\Delta H = 0$.
   d. El signo y la magnitud de ΔG dan una información importante sobre la dirección y la velocidad de una reacción.
   e. En el equilibrio $\Delta G = \Delta G^\circ$.
   f. Para que dos reacciones se acoplen deben tener un intermediario común.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. El piruvato se oxida para formar dióxido de carbono y agua y libera 1142.2 kJ/mol. Si también tiene lugar la cadena de transporte electrónico, se producen aproximadamente 12.5 moléculas de ATP. La energía libre de hidrólisis del ATP es −30.5 kJ/mol. ¿Cuál es la eficacia aparente de la producción de ATP?

2. En la reacción

$$ATP + \text{glucosa} \longrightarrow ADP + \text{glucosa-6-fosfato}$$

ΔG° es −16.7 kJ/mol. Suponga que la concentración de ATP y ADP son cada una 1 M y T = 25 °C. ¿Qué cociente de glucosa-6-fosfato a glucosa permitiría que comenzara la reacción inversa?

3. La Termodinámica se basa en el comportamiento de un gran número de moléculas. Sin embargo, dentro de la célula, en un determinado momento puede sólo haber unas pocas moléculas de un tipo particular. ¿Son aplicables las leyes de la Termodinámica en estas circunstancias?

4. Frecuentemente, cuando se disuelven las sales en agua, la solución se calienta. Ese proceso es exotérmico. Cuando otras sales, como el cloruro amónico, se disuelven en agua, la solución se enfría, indicando un proceso endotérmico. Dado que los procesos endotérmicos no suelen ser espontáneos, ¿por qué tiene lugar el segundo proceso?

5. De las tres magnitudes termodinámicas ΔH, ΔG y ΔS, ¿cuál proporciona el criterio de espontaneidad más útil de una reacción? Explíquelo.

6. ¿Qué factores hacen al ATP adecuado como «moneda de intercambio energético» de la célula?

7. Para determinar la $\Delta G^{\circ\prime}$ de una reacción dentro de una célula, ¿qué información necesitaría?

8. Dados los siguientes datos, calcule K_{eq} para la reacción de desnaturalización de la β-lactoglobulina a 25 °C:

$$\Delta H = -88\ \text{kJ/mol}$$
$$\Delta S = 0.3\ \text{kJ/mol}$$

9. ¿Cuál de los siguientes compuestos tendrá el potencial de transferencia de grupo fosfato más elevado? Explique su respuesta.

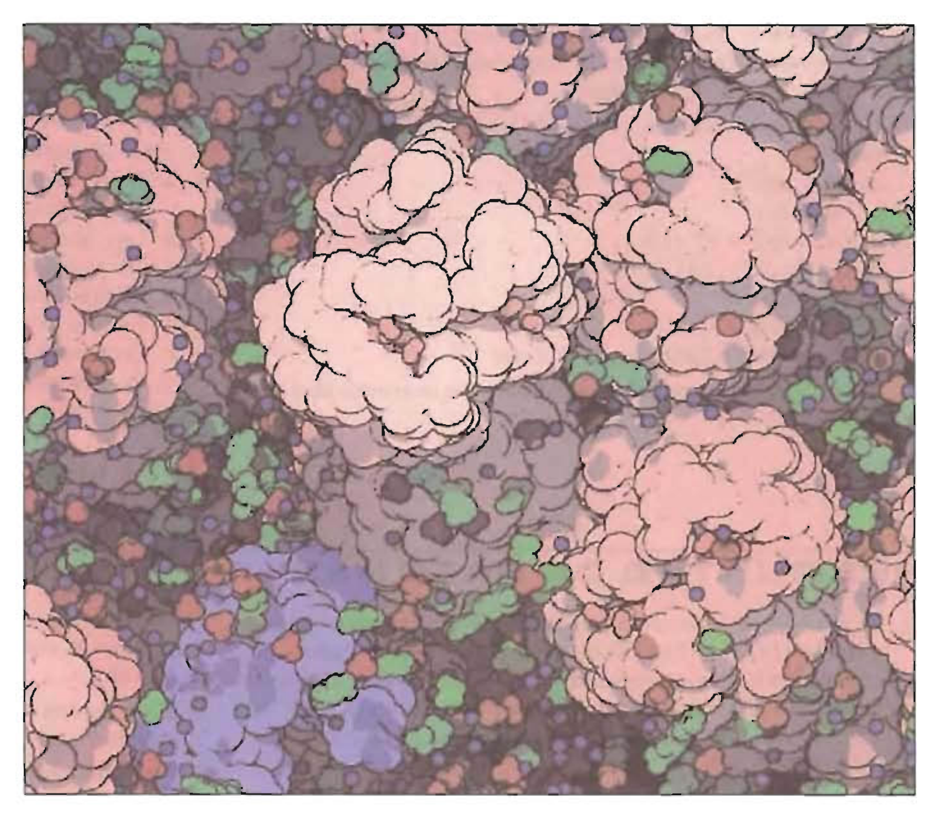
$CH_2{=}C(OPO_3H_2){-}C({=}O){-}OH$ $CH_3{-}CH(OPO_3H_2){-}C({=}O){-}OH$

10. La energía libre de hidrólisis del ATP en sistemas sin Mg^{2+} es −35.7 kJ/mol. Cuando $[Mg^{2+}]$ es 5 mM, $\Delta G^\circ_{\text{observada}}$ es aproximadamente −31 kJ/mol a pH 7 y 38 °C. Sugiera una razón posible para este efecto.

CAPÍTULO CINCO

Aminoácidos, péptidos y proteínas

SUMARIO



Hemoglobina en el interior de un eritrocito. Los eritrocitos humanos están llenos casi a estallar con la proteína transportadora de oxígeno hemoglobina. Las estructuras grandes de color rosa son moléculas de hemoglobina. En verde se presentan los azúcares y los aminoácidos. Los iones positivos están en azul y los iones negativos en rojo. La molécula azul grande es una enzima.

Las proteínas son constituyentes esenciales de todos los organismos. La mayoría de las tareas que realizan las células requieren proteínas. La diversidad de funciones que pueden realizar es asombrosa. Por ejemplo, en los animales, las proteínas son los componentes estructurales principales del músculo, el tejido conjuntivo, las plumas, las uñas y el pelo. Además de servir como materiales estructurales en todos los seres vivos, las proteínas participan en funciones tan diversas como la regulación metabólica, el transporte, la defensa y la catálisis. La diversidad funcional que exhiben esta clase de biomoléculas está relacionada directamente con las posibilidades de combinación de las unidades monoméricos, los 20 aminoácidos.

Aunque para los sistemas vivos es crucial un flujo ininterrumpido de energía, éste es insuficiente para mantener la complejidad organizada de la vida. Se requiere también un flujo continuo de cantidades asombrosas de información oportuna, precisa y exacta. La información es una medida del orden a la que en ocasiones se denomina *entropía negativa*. En términos generales, la información especifica las instrucciones que se requieren para crear una organización concreta. En los seres vivos, es inherente a la configuración atómica tridimensional de las biomoléculas. La información de los genes son las instrucciones para fabricar las proteínas y ribonucleoproteínas que se requieren para mantener la vida. Las proteínas y ribonucleoproteínas constituyen la maquinaria y la estructura de la célula. Las propias proteínas son informativas, cada una de ellas con una forma singular (Fig. 5.1), lo que permite interacciones selectivas con sólo una molécula o unas pocas moléculas. La enzima glucoquinasa sólo acepta como sustrato a la glucosa, mientras que la hexoquinasa acepta glucosa, galactosa o manosa, a pesar de que las dos enzimas catalizan la misma reacción de la misma forma. La glucoquinasa posee una especificidad elevada, mientras que la hexoquinasa tiene una especificidad baja. En general, cuanto mayor es la proteína, mayor es el potencial de capacidades multifuncionales, de forma que una enzima además del sustrato puede unir ligandos moduladores.

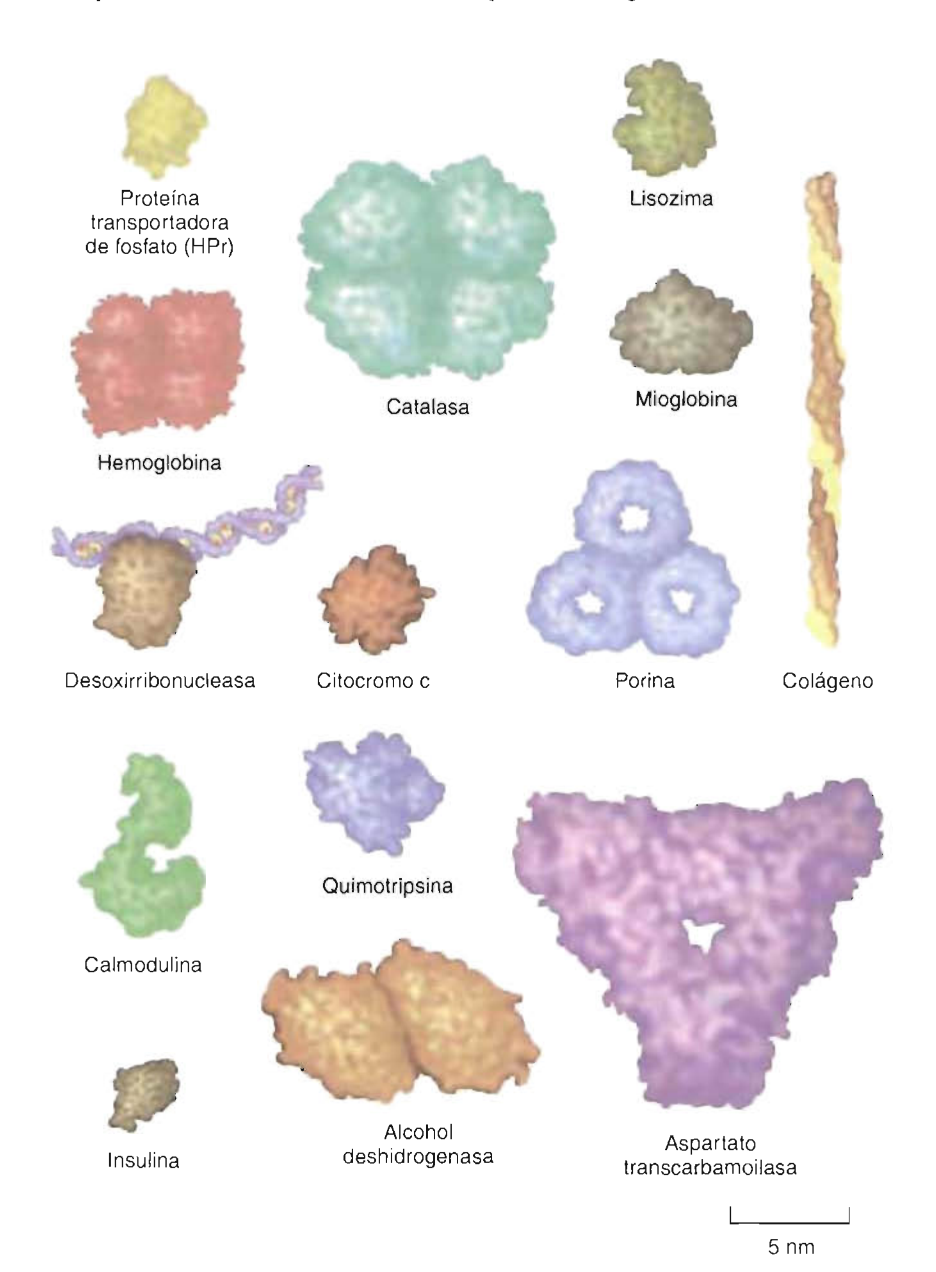


FIGURA 5-1

Diversidad proteica.

Las proteínas se presentan en una diversidad enorme de tamaños y formas.

Las proteínas pueden estar formadas por hasta 20 aminoácidos diferentes. En cada proteína los tipos y cantidades precisas de cada aminoácido están ligados de forma covalente en una secuencia lineal especificada por la secuencia de bases del mRNA generado por el DNA para esa proteína. La capacidad de cada tipo de las decenas de miles de proteínas diferentes para realizar sus funciones está especificada por su secuencia singular de aminoácidos. Durante la síntesis, cada molécula polipeptídica se dobla en el espacio tridimensional a medida que sus aminoácidos componentes (denominados **residuos**) interaccionan entre ellos, en gran parte a través de interacciones no covalentes. El plegamiento posterior de una molécula proteica en su propia estructura tridimensional, única, compleja y biológicamente activa, es un proceso dictado por la información contenida en las estructuras de sus aminoácidos.

Los polímeros de aminoácidos se diferencian de acuerdo con sus pesos moleculares o el número de residuos que contienen. Las moléculas con pesos moleculares entre varios miles y varios millones de dalton (D) se denominan **polipéptidos**. Aquellas con pesos moleculares bajos, que constan de menos de 50 aminoácidos, se denominan **péptidos**. El término **proteína** describe las moléculas con más de 50 aminoácidos. Cada proteína consta de una o varias cadenas polipeptídicas. La distinción entre proteínas y péptidos es con frecuencia imprecisa. Por ejemplo, algunos bioquímicos definen a los oligopéptidos como polímeros que constan de dos a diez aminoácidos, y polipeptidos a los que tienen más de diez residuos. Con esta visión, las proteínas tienen pesos moleculares mayores de 10 000 D. Además, los términos *proteína* y *polipéptido* frecuentemente se emplean de forma intercambiable. En este texto se utilizarán los términos *péptido* y *proteína* tal y como se han definido anteriormente. El término *polipéptido* se utilizará cuando el tema que se considere tenga aplicación para péptidos y proteínas.

Los polipéptidos pueden romperse mediante hidrólisis para dar en sus moléculas monoméricas constituyentes. Los aminoácidos producto de la reacción constituyen la *composición de aminoácidos* del polipéptido.

Este capítulo comienza con una revisión de las estructuras y las propiedades químicas de los aminoácidos. A lo que sigue una descripción de las características estructurales de los péptidos y las proteínas. El capítulo finaliza con una consideración de las propiedades estructurales y funcionales de varias proteínas muy estudiadas. Se hace énfasis a lo largo del capítulo sobre la íntima relación entre la estructura y la función de los polipéptidos. En el Capítulo 6 se presenta el funcionamiento de las enzimas, un grupo especialmente importante de proteínas. En el Capítulo 19 se describen la síntesis proteica y los procesos de plegamiento.

5.1. AMINOÁCIDOS

En la Figura 5.2 se muestran las estructuras de los 20 aminoácidos que se encuentran habitualmente en las proteínas. Estos aminoácidos se denominan *estándar*. En el Cuadro 5.1 se da una relación de las abreviaturas de los aminoácidos estándar. Obsérvese que 19 de los aminoácidos estándar tienen la misma estructura general (Fig. 5.3). Estas moléculas contienen un átomo de carbono central (el carbono α) al que están unidos un grupo amino, un grupo carboxilato, un átomo de hidrógeno y un grupo R (cadena lateral).

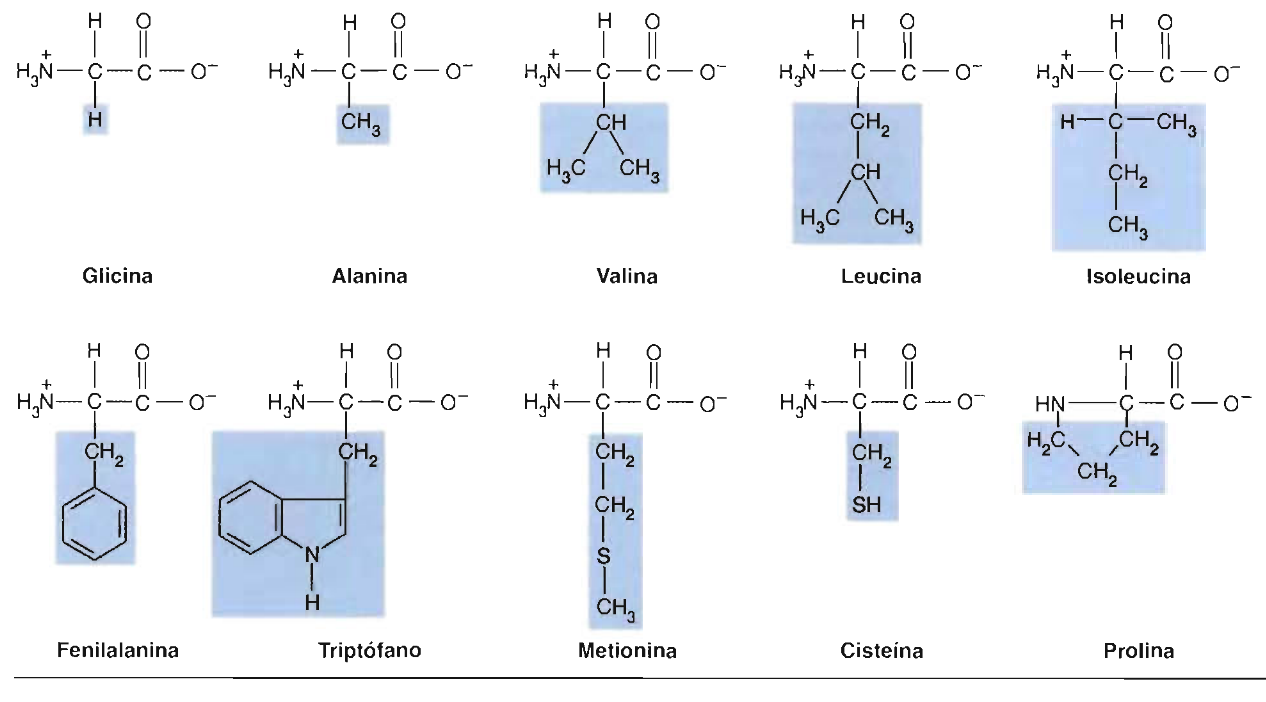
La excepción, la prolina, difiere de los otros aminoácidos estándar en que su grupo amino es secundario, formado por un cierre en anillo entre el grupo R y el nitrógeno amino. La prolina confiere rigidez a la cadena peptídica debido a que no es posible la rotación alrededor del carbono α. Esta característica estructural posee implicaciones significativas en la estructura y, por lo tanto, la función de las proteínas con un contenido elevado de prolina.

Los aminoácidos *no estándar* son residuos de aminoácido que se han modificado de forma química después de haberse incorporado a un polipéptido o los aminoácidos que se encuentran en los seres vivos pero que no se encuentran en las proteínas.

CONCEPTOS CLAVE 5.1

Cada proteína está formada por bloques de construcción denominados aminoácidos. Los aminoácidos son moléculas anfóteras; es decir, pueden actuar como ácido o como base. Los aminoácidos poseen varias funciones biológicas importantes, además de su función primaria como componentes de las proteínas.

Aminoácidos neutros apolares



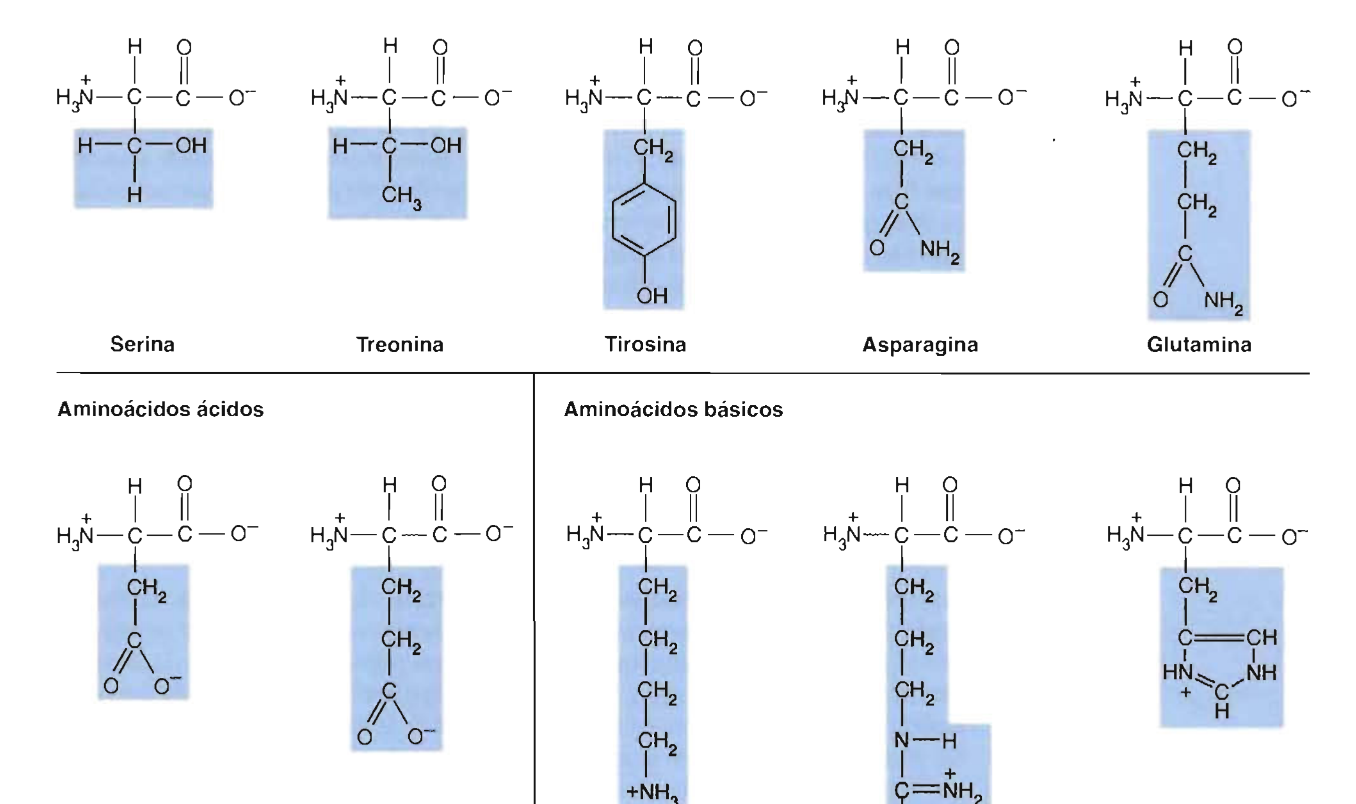


FIGURA 5-2

Aminoácidos estándar.

La cadena lateral está indicada por el recuadro sombreado.

CUADRO 5-1

Nombres y abreviaturas de los aminoácidos estándar

Aminoácido	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutámico	Glu	E
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Cisteína	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glutamina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Tirosina	Tyr	Y
Triptófano	Trp	W
Valina	Val	V

A un pH de 7, el grupo carboxilo de un aminoácido se encuentra en su forma de base conjugada ($-COO^-$) y el grupo amino en su forma de ácido conjugado ($-NH_3^+$). De este modo, cada aminoácido puede comportarse como un ácido o como una base. El término **anfótero** se utiliza para describir esta propiedad. Las moléculas neutras que llevan un número igual de cargas positivas y negativas de forma simultánea se denominan **zwitteriones**. Sin embargo, el grupo R proporciona a cada aminoácido sus propiedades singulares.

FIGURA 5-3
Estructura general de los aminoácidos α.

Clases de aminoácidos

Dado que la secuencia de aminoácidos determina la configuración tridimensional final de cada proteína, sus estructuras se analizan cuidadosamente en las siguientes cuatro subsecciones. Los aminoácidos se clasifican de acuerdo con su capacidad para interaccionar con el agua. Utilizando este criterio, pueden distinguirse cuatro clases: (1) apolares neutros, (2) polares neutros, (3) ácidos, (4) básicos.

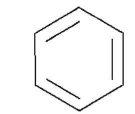


FIGURA 5-4
Benceno.

AMINOÁCIDOS APOLARES NEUTROS Los aminoácidos apolares neutros contienen principalmente grupos R hidrocarbonados. El término *neutro* se utiliza debido a que estos grupos R no llevan cargas positivas o negativas. Dado que interaccionan poco con el agua, los aminoácidos apolares (es decir, hidrófobos) participan de forma importante en el mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas. En este grupo se encuentran dos tipos de cadenas R hidrocarbonadas: aromáticas y alifáticas. (Recuerde que los hidrocarburos **aromáticos** contienen estructuras cíclicas que constituyen una clase de hidrocarburos insaturados con propiedades únicas. El benceno es uno de los hidrocarburos aromáticos más sencillos (Fig. 5.4). El término **alifático** denomina a los hidrocarburos no aromáticos, como el metano y el ciclohexano.) La fenilalanina y el triptófano contienen estructuras de anillo aromático. La glicina, la alanina, la valina, la leucina, la isoleucina y la prolina tienen grupos R alifáticos. En las cadenas laterales alifáticas de la metionina y la cisteína hay un átomo de azufre. En la metionina los electrones no enlazantes del

átomo de azufre pueden formar enlaces con electrófilos como los iones metálicos. Aunque el grupo sulfhidrilo (—SH) de la cisteína es apolar, puede formar enlaces de hidrógeno débiles con el oxígeno y el nitrógeno. Los grupos sulfhidrilo, que son muy reactivos, son componentes importantes de muchas enzimas. Además, los grupos sulfhidrilo de dos moléculas de cisteína pueden oxidarse espontáneamente para formar un compuesto disulfuro denominado cistina. (Véase la pág. 121 para un tratamiento de esta reacción.)

AMINOÁCIDOS POLARES NEUTROS Dado que los aminoácidos polares poseen grupos funcionales capaces de formar enlaces de hidrógeno, interaccionan fácilmente con el agua (los aminoácidos polares se describen como «hidrófilos» o «amantes del agua»). Pertenecen a esta categoría, serina, treonina, tirosina, asparagina y glutamina. La serina, la treonina y la tirosina contienen un grupo hidroxilo polar, que los capacita para participar en enlaces de hidrógeno, un factor importante en la estructura proteica. Los grupos hidroxilo tienen otras funciones en las proteínas. Por ejemplo, la formación del éster fosfato de la tirosina es un mecanismo de regulación habitual. Además, los grupos —OH de serina y treonina son puntos a los que se unen los hidratos de carbono. La asparagina y la glutamina son derivados amida de los aminoácidos ácidos: ácido aspártico y ácido glutámico, respectivamente. Dado que el grupo funcional amida es muy polar, la capacidad de formar enlaces de hidrógeno de la asparagina y la glutamina posee un efecto significativo en la estabilidad proteica.

AMINOÁCIDOS ÁCIDOS Dos aminoácidos estándar poseen cadenas laterales con grupos carboxilato. Las cadenas laterales del ácido aspártico y del ácido glutámico están cargadas negativamente a pH fisiológico, por lo que suele llamárseles aspartato y glutamato.

AMINOÁCIDOS BÁSICOS Los aminoácidos básicos a pH fisiológico llevan una carga positiva. Por lo tanto, pueden formar enlaces iónicos con los aminoácidos ácidos. La lisina, que tiene un grupo amino en la cadena lateral, acepta un protón del agua para formar el ácido conjugado (—NH_3^+). Cuando se oxida la cadena lateral de la lisina en las proteínas como el colágeno, se forman enlaces cruzados fuertes intramoleculares e intermoleculares. El grupo guanidino de la arginina tiene un intervalo de pK_a en las proteínas entre 11.5 y 12.5, por lo cual se encuentra permanentemente protonado a pH fisiológico y no actúa en las reacciones acidobásicas. Por otro lado, la histidina es una base débil, ya que sólo está ionizada parcialmente a pH 7. Como consecuencia de esto, los residuos de histidina actúan como amortiguadores. Desempeñan también un papel importante en la actividad catalítica de numerosas enzimas.

CONCEPTOS CLAVE 5.2

Los aminoácidos se clasifican de acuerdo con su capacidad para interaccionar con el agua. Utilizando este criterio pueden distinguirse cuatro clases: apolares, polares, ácidos y básicos.

PREGUNTA 5.1

Se muestran las estructuras de varios aminoácidos estándar. Clasifíquelos de acuerdo a si son apolares neutros, polares neutros, ácidos o básicos.

(a) $H_2N—CH(COOH)—CH_2SH$

(b) $H_2N—CH(COOH)—CH_2—C_6H_5$

(c) $H_2N—CH(COOH)—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—NH_2$

(d) $H_2N—CH(COOH)—CH_2—CH_2—COOH$

Aminoácidos con actividad biológica

Además de su función principal como componentes de las proteínas, los aminoácidos poseen otras funciones biológicas.

1. Varios aminoácidos α o sus derivados actúan como mensajeros químicos (Fig. 5.5). Por ejemplo, la glicina, el ácido γ-aminobutírico (GABA, un derivado de la glutamina) y la serotonina y la melatonina (derivados del triptófano) son **neurotransmisores**, sustancias liberadas por una célula nerviosa que influyen sobre la función de una segunda célula nerviosa o una célula muscular. La tiroxina (un derivado de la tirosina que se produce en la glándula tiroides de los animales) y el ácido indol acético (un derivado del triptófano que se encuentra en las plantas) son dos ejemplos de hormonas. Las **hormonas** son moléculas señalizadoras producidas en una célula que regulan la función de otras células.

FIGURA 5-5
Algunos derivados de los aminoácidos.

$H_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-CH_2-C(=O)-O^-$

GABA

Serotonina

Melatonina

Tiroxina

Ácido indol acético

2. Los aminoácidos son precursores de diversas moléculas complejas que contienen nitrógeno. Entre los ejemplos se encuentran las bases nitrogenadas componentes de los nucleótidos y los ácidos nucleicos, el hemo (el grupo orgánico que contiene el hierro necesario para la actividad biológica de varias proteínas importantes) y la clorofila (un pigmento de importancia crucial en la fotosíntesis).
3. Varios aminoácidos estándar y no estándar actúan como intermediarios metabólicos. Por ejemplo, la arginina, la citrulina y la ornitina (Fig. 5.6) son componentes del ciclo de la urea (Cap. 15). La síntesis de urea, una molécula que se forma en el hígado de los vertebrados, es el principal mecanismo para eliminar los desechos nitrogenados.

Citrulina

Ornitina

FIGURA 5-6

Citrulina y ornitina.

Aminoácidos modificados de las proteínas

Varias proteínas contienen derivados de aminoácidos que se forman tras la síntesis de la cadena polipeptídica. Entre estos aminoácidos modificados se encuentra el ácido γ-carboxiglutámico (Fig. 5.7), un residuo de aminoácido que une el calcio que se encuentra en la proteína de la coagulación de la sangre, protrombina. La 4-hidroxiprolina y la 5-hidroxiprolina son componentes estructurales importantes del colágeno, la proteína más abundante del tejido conjuntivo. La fosforilación de los aminoácidos que contienen hidroxilo, serina, treonina y tirosina suele utilizarse para regular la actividad de las proteínas. Por ejemplo, la síntesis del glucógeno está significativamente restringida cuando la enzima glucógeno sintasa está fosforilada.

Estereoisómeros de los aminoácidos

Debido a que los carbonos α de 19 de los 20 aminoácidos estándar están unidos a cuatro grupos diferentes (es decir, un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R), se denominan **carbonos asimétricos** o **quirales**. La glicina es una molécula simétrica ya que su carbono α está unido a dos hidrógenos. Las moléculas con carbonos quirales pueden existir como **estereoisómeros**, moléculas que sólo se diferencian en la disposición espacial de sus átomos. En la Figura 5.8 se muestran las representaciones tridimensionales de los estereoisoméros de los aminoácidos. Obsérvese en la figura que los átomos de los dos isómeros están unidos juntos en el mismo patrón excepto por la posición del grupo amonio y del átomo de hidrógeno. Estos dos isómeros son imágenes especulares uno de otro. Moléculas así, denominadas **enantiómeros**, no pueden superponerse una sobre otra. Las propiedades físicas de los enantiómeros son idénticas, excepto que desvían la luz polarizada plana en direcciones opuestas. (En la luz polarizada plana, que se produce haciendo pasar la luz sin polarizar a través de un filtro especial, las ondas luminosas sólo vibran en un plano.) Las moléculas que poseen esta propiedad se denominan **isómeros ópticos**.

γ-Carboxiglutamato

4-Hidroxiprolina

5-Hidroxilisina

o-Fosfoserina

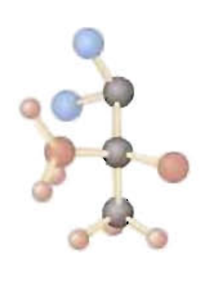
FIGURA 5-7

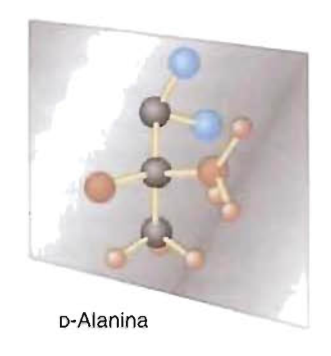
Algunos residuos de aminoácidos modificados que se encuentran en los polipéptidos.

FIGURA 5-8

Dos enantiómeros.

La L-alanina y la D-alanina son imágenes especulares una de otra.





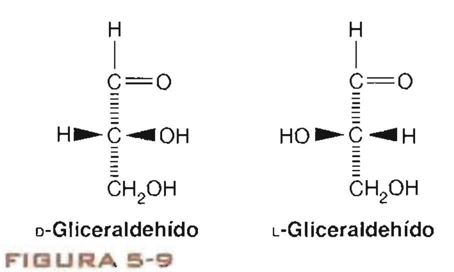


FIGURA 5-9

D- y L-Gliceraldehído.

Estas moléculas son imágenes especulares una de otra.

El gliceraldehído es el compuesto de referencia para los isómeros ópticos (Fig. 5.9). Un isómero del gliceraldehído desvía el haz de luz en el sentido de las agujas del reloj y se denomina dextrógiro (se designa por +). El otro isómero del gliceraldehído, denominado levógiro (se designa por –), y desvía el haz en la dirección opuesta hasta un grado igual. A los isómeros ópticos se les suele denominar D o L; por ejemplo, D-glucosa y L-alanina. La D o L indica la similitud de la disposición de los átomos alrededor de un carbono asimétrico de la molécula con el carbono asimétrico de uno u otro de los isómeros del gliceraldehído.

Debido a que muchas biomoléculas tienen más de un carbono quiral, las letras D y L sólo se refieren a las relaciones estructurales de la molécula con uno u otro de los isómeros del gliceraldehído, no con la dirección en que desvían la luz polarizada plana. Muchas moléculas simétricas de los seres vivos se presentan en una única forma estereoisomérica, bien D o L. Por ejemplo, con pocas excepciones, en las proteínas sólo se encuentran los aminoácidos L.

La quiralidad ha tenido un efecto importante sobre las propiedades estructurales y funcionales de las biomoléculas. Por ejemplo, las hélices a derechas que se observan en las proteínas son consecuencia de la presencia exclusiva de aminoácidos L. Los polipéptidos que se sintetizan en el laboratorio con aminoácidos D y L no forman hélices. Además, como las enzimas son moléculas quirales, sólo pueden unir moléculas de sustrato en una forma enantiómera. Las proteasas, enzimas que degradan proteínas por hidrólisis de los enlaces peptídicos, no pueden degradar polipéptidos artificiales formados por aminoácidos D.

CONCEPTOS CLAVE 5.3

Las moléculas que se diferencian sólo en la disposición espacial de alguno de sus átomos se denominan estereoisómeros. Los estereoisómeros con un átomo de carbono asimétrico poseen dos formas especulares no superponibles denominadas enantiómeros. En los seres vivos la mayoría de las moléculas asimétricas posee sólo una forma estereoisómera.

PREGUNTA 5.2

Determinadas especies bacterianas poseen capas externas formadas por polímeros de aminoácidos D. Las células del sistema inmunitario, cuya tarea es atacar y destruir a las células ajenas, no pueden destruir estas bacterias. Sugiera una razón para este fenómeno.

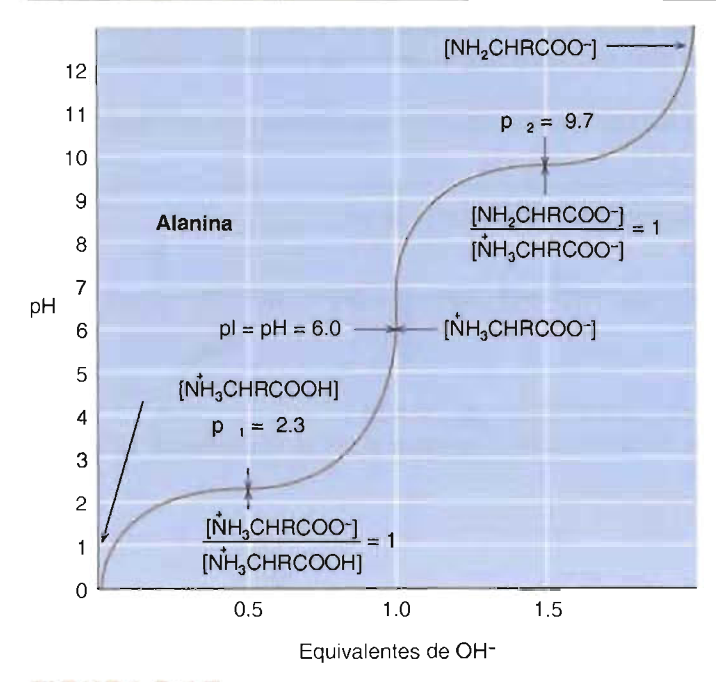
Titulación de los aminoácidos

Debido a que los aminoácidos contienen grupos ionizables (Cuadro 5.2), la forma iónica predominante de estas moléculas en disolución depende del pH. La titulación de un aminoácido explica el efecto del pH sobre la estructura del aminoácido (Fig. 5.10a). La titulación también es una herramienta útil para determinar la reactividad de las cadenas laterales de los aminoácidos. Considere la alanina, un aminoácido sencillo, que tiene dos grupos titulables. Durante la titulación con una base fuerte como el NaOH, la alanina pierde dos protones de forma escalonada. En una disolución muy ácida (p. ej., a pH 0), la alanina se encuentra presente fundamentalmente en la forma sin carga en el grupo carboxilo. En estas circunstancias la carga neta de la molécula es +1, debido a que el grupo amonio está protonado. El descenso de la concentración de H^+ hace que el grupo carboxilo pierda su protón y se transforme en un grupo carboxilato con carga negativa. (En un ácido poliprótico, los primeros protones que se pierden son los del grupo con el pK_a menor.) En este punto, la

CUADRO 5-2

Valores de pK_a de los grupos ionizables de los aminoácidos

Aminoácido	pK_1	pK_2	pK_R
Glicina	2.34	9.6	
Alanina	2.34	9.69	
Valina	2.32	9.62	
Leucina	2.36	9.6	
Isoleucina	2.36	9.6	
Serina	2.21	9.15	
Treonina	2.63	10.43	
Metionina	2.28	9.21	
Fenilalanina	1.83	9.13	
Triptófano	2.83	9.39	
Asparagina	2.02	8.8	
Glutamina	2.17	9.13	
Prolina	1.99	10.6	
Cisteína	1.71	10.78	8.33
Histidina	1.82	9.17	6.0
Ácido aspártico	2.09	9.82	3.86
Ácido glutámico	2.19	9.67	4.25
Tirosina	2.2	9.11	10.07
Lisina	2.18	8.95	10.79
Arginina	2.17	9.04	12.48



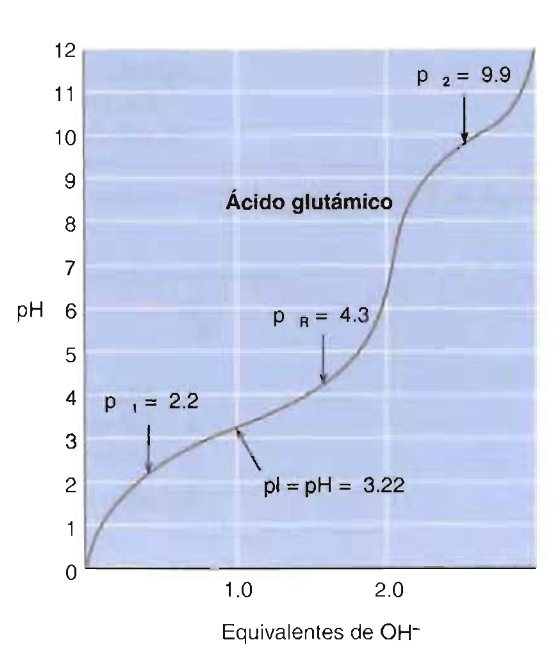


FIGURA 5-10

Titulación de (a) la alanina y (b) el ácido glutámico.

alanina no tiene carga neta y es eléctricamente neutra. El punto al que se produce esto se denomina **punto isoeléctrico** (pI). Debido a que no hay carga neta en el punto isoeléctrico, a este pH los aminoácidos son menos solubles. (Los zwitteriones cristalizan con facilidad.) El punto isoeléctrico de la alanina puede calcularse de la siguiente forma:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

Los valores de pK_1 y pK_2 de la alanina son, respectivamente, 2.34 y 9.7 (véase el Cuadro 5.2). El valor de pI de la alanina es por lo tanto

$$\text{pI} = \frac{2.34 + 9.7}{2} = 6.0$$

Al continuar la titulación, el grupo amonio pierde su protón, dejando el grupo amino sin carga. La molécula tiene entonces una carga neta negativa debida al grupo carboxilato.

Los aminoácidos con cadenas laterales ionizables tienen curvas de titulación más complejas (Fig. 5.10b). Por ejemplo, el ácido glutámico tiene un grupo carboxilo en la cadena lateral. A pH bajo, el ácido glutámico tiene una carga neta +1. Al añadir la base, el grupo carboxilo α pierde un protón para transformarse en grupo carboxilato. El glutamato no tiene ahora carga neta. Al añadir más base, el segundo grupo carboxilo pierde un protón y la molécula tiene una carga −1. La adición de más base hace que el ion amonio pierda su protón. En este punto, el glutamato tiene una carga neta de −2. El valor de pI para el glutamato es el pH a mitad de camino entre los valores de pK_a de los dos grupos carboxilo:

$$\text{pI} = \frac{2.19 + 4.25}{2} = 3.22$$

El punto isoeléctrico de la histidina es el valor de pH a mitad de camino entre el valor de pK_a de los dos grupos que contienen nitrógeno. Los valores de pK_a y pI de los aminoácidos en los péptidos y las proteínas difieren algo de los de los aminoácidos libres, principalmente debido a que la mayoría de los grupos α-amino y α-carboxilo no están ionizados sino que están unidos de forma covalente en los enlaces peptídicos.

Los problemas 5.1 y 5.2 son muestras de problemas de titulación, que se dan con sus soluciones.

PROBLEMA 5.1

Considere el aminoácido siguiente y sus valores de pK_a:

$$HO{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}C(=O){-}OH \xrightarrow{OH^-} HO{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}C(=O){-}O^-$$

pK_{a1} = 2.19 pK_{a2} = 9.67 pK_{aR} = 4.25

a. Dibuje la estructura del aminoácido al cambiar el pH de la disolución de muy ácido a muy básico.

Solución

$$HO{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}C(=O){-}OH \xrightarrow{OH^-} HO{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}C(=O){-}O^-$$

$$\xrightarrow{OH^-} {}^-O{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}C(=O){-}O^- \xrightarrow{OH^-} {}^-O{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_2){-}C(=O){-}O^-$$

Los hidrógenos ionizables se pierden en el orden de la acidez, ionizándose primero los más ácidos.

b. ¿Qué forma del aminoácido se encuentra presente en el punto isoeléctrico?

Solución

La forma presente en el punto isoeléctrico es la eléctricamente neutra:

$$\mathrm{HO{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(\overset{+}{N}H_3){-}C({=}O){-}O^-}$$

c. Calcule el punto isoeléctrico.

Solución

El punto isoeléctrico es el promedio de los dos pK_a que encierran la estructura isoeléctrica:

$$\mathrm{pI} = \frac{\mathrm{p}K_{a1} + \mathrm{p}K_{aR}}{2} = \frac{2.19 + 4.25}{2} = 3.22$$

d. Represente la curva de titulación del aminoácido.

Solución

Aparecen mesetas a los pK_a y están centradas a alrededor de 0.5 equivalentes (Eq), 1.5 Eq y 2.5 Eq de base. Existe un aumento brusco a 1 Eq, 2 Eq y 3 Eq. El punto isoeléctrico está a medio camino del aumento brusco entre el pK_{a1} y el pK_{aR}.

e. ¿En qué dirección se mueve el aminoácido cuando se coloca en un campo eléctrico a los valores de pH siguientes: 1, 3, 5, 7, 9, 12?

Solución

A los valores de pH por debajo del pI, el aminoácido está cargado positivamente y se mueve hacia el cátodo (electrodo negativo). A los valores de pH por encima del pI, el aminoácido tiene carga negativa y se mueve hacia el ánodo (electrodo positivo). En el punto isoeléctrico, el aminoácido no tiene carga neta y por lo tanto no se mueve en el campo isoeléctrico.

PROBLEMA 5.2

Considere el tetrapéptido siguiente:

Lys—Ser—Asp—Ala

a. Determine el pI del péptido.

Solución

Más adelante se presenta la estructura del tetrapéptido en su forma más ácida.

$$\mathrm{H_3\overset{+}{N}{-}CH(CH_2CH_2CH_2CH_2\overset{+}{N}H_3){-}C({=}O){-}NH{-}CH(CH_2OH){-}C({=}O){-}NH{-}CH(CH_2{-}C({=}O){-}OH){-}C({=}O){-}NH{-}CH(CH_3){-}C({=}O){-}OH}$$

En el Cuadro 5.2 se indican los valores de pK_a de la lisina y del ácido aspártico, ambos con cadenas laterales ionizables. La lisina también contiene un grupo α-amino terminal y la alanina un grupo α-carboxilo terminal. Estos valores son los siguientes:

Lisina: α-amino = 8.95, amino de la cadena lateral = 10.79
Ácido aspártico: carboxilo de la cadena lateral = 3.86
Alanina: α-carboxilo = 2.34

(Estos valores son aproximaciones, ya que el comportamiento de los aminoácidos está afectado por la presencia de otros grupos.) El péptido eléctricamente neutro se forma después de que ambos grupos carboxilo hayan perdido sus protones, pero antes de que el grupo amonio haya perdido algún protón. El punto isoeléctrico se calcula como sigue:

$$pI = \frac{3.86 + 8.95}{2} = \frac{12.81}{2} = 6.4$$

CONCEPTOS CLAVE 5.4

La titulación es útil para determinar la reactividad de las cadenas laterales de los aminoácidos. El pH al que el aminoácido no posee carga neta se denomina su punto isoeléctrico.

b. ¿En qué dirección se moverá el péptido cuando se coloque en un campo eléctrico a los pH siguientes: 4 y 9?

Solución

A pH = 4, el péptido está cargado positivamente y se mueve hacia el electrodo negativo (cátodo). A pH = 9, el péptido está cargado negativamente y se moverá hacia el electrodo positivo (ánodo).

Reacciones de los aminoácidos

Los grupos funcionales de las moléculas orgánicas determinan las reacciones que pueden experimentar. Los aminoácidos con sus grupos carboxilo, amino y varios grupos R pueden experimentar numerosas reacciones químicas. Sin embargo, dos reacciones (la formación del enlace peptídico y la formación de puentes disulfuro) son de interés especial debido a su efecto sobre la estructura proteica.

FORMACIÓN DEL ENLACE PEPTÍDICO Los polipéptidos son polímeros lineales formados por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los **enlaces peptídicos** (Fig. 5.11) son enlaces amida que se forman cuando el par de electrones sin compartir del átomo de nitrógeno α-amino de un aminoácido ataca al carbono α-carboxilo de otro en una reacción de sustitución nucleófila. Se muestra una reacción general de sustitución de acilo:



Dado que esta reacción es una deshidratación (es decir, se elimina una molécula de agua), los aminoácidos unidos se denominan *residuos de aminoácido*. Cuando dos moléculas de aminoácido se unen, el producto se llama un dipéptido. Por ejemplo, la glicina y la serina pueden formar los dipéptidos glicilserina y serilglicina. Al añadirse los aminoácidos y alargarse la cadena, el prefijo refleja el número de residuos. Por ejemplo, un tripéptido contiene tres residuos de aminoácido, un tetrapéptido cuatro, y así sucesivamente. Por convenio, el residuo de aminoácido con el grupo amino libre se denomina residuo *N-terminal* y se escribe a la izquierda. El grupo carboxilo libre en el residuo *C-terminal* aparece a la derecha. Los péptidos se nombran utilizando su secuencia de aminoácidos, empezando por su residuo N-terminal. Por ejemplo,

$$H_2N—Tyr—Ala—Cys—Gly—COOH$$

es un tetrapéptido denominado tirosilalanilcisteinilglicina.

PREGUNTA 5.3

Considerando sólo los 20 aminoácidos estándar, calcule el número total de tetrapéptidos posibles.

Los polipéptidos grandes tienen estructuras tridimensionales bien definidas. Esta estructura, que se denomina conformación nativa de la molécula, es una consecuencia directa de su *secuencia de aminoácidos* (el orden en el que están unidos los aminoácidos). Dado que todos los enlaces que conectan a los residuos de aminoácido constan de enlaces sencillos, puede esperarse que cada polipéptido experimente cambios conformacionales constantes producidos por la rotación alrededor de los enlaces sencillos. Sin embargo, la mayoría de los polipéptidos se pliega espontánea-

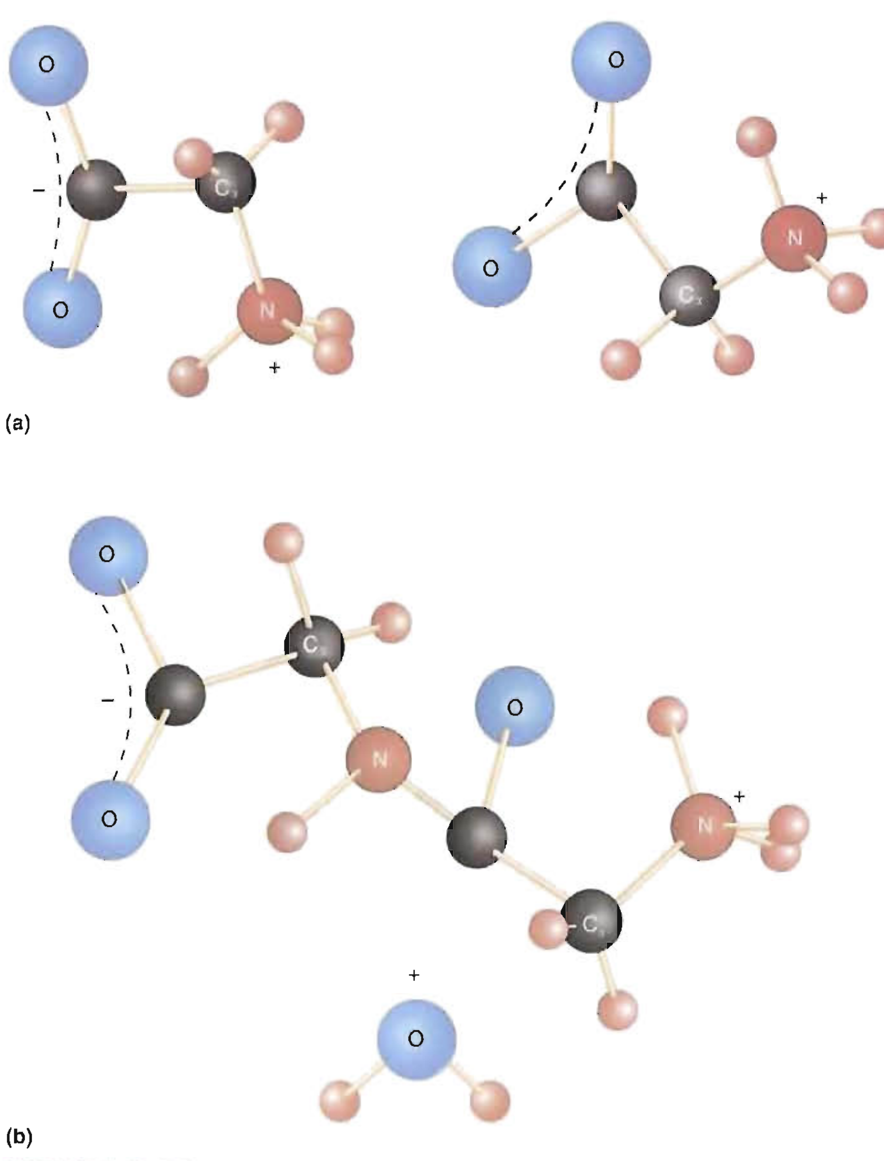


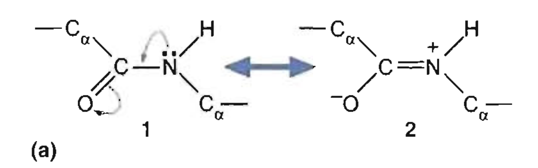
FIGURA 5-11

Formación de un dipéptido.

(a) Se forma un enlace peptídico cuando el grupo α-carboxilo de un aminoácido reacciona con el grupo amino de otro. (b) En la reacción se pierde una molécula de agua.

mente en una única forma biológicamente activa. A principios de 1950, Linus Pauling y sus colegas propusieron una explicación. Utilizando estudios de difracción de rayos X, determinaron que el enlace peptídico es rígido y plano (Fig. 5.12) Habiendo descubierto que los enlaces C—N que unen cada dos aminoácidos son más cortos que otros tipos de enlaces C—N, Pauling dedujo que los enlaces peptídicos tienen un carácter parcial de doble enlace. (Esto indica que los enlaces peptídicos son híbridos de resonancia.) La rigidez del enlace peptídico tiene varias consecuencias. Dado que casi un tercio de los enlaces de la cadena esquelética polipeptídica no puede girar libremente, existen límites sobre el número de posibilidades conformacionales. Otra consecuencia es que en los segmentos de polipéptido extendidos, los grupos R sucesivos aparecen en lados opuestos (Fig. 5.13).

OXIDACIÓN DE LA CISTEÍNA El grupo sulfhidrilo de la cisteína es muy reactivo. La reacción más común de este grupo es una oxidación reversible que forma un disulfuro. La oxidación de dos moléculas de cisteína forma cistina, una



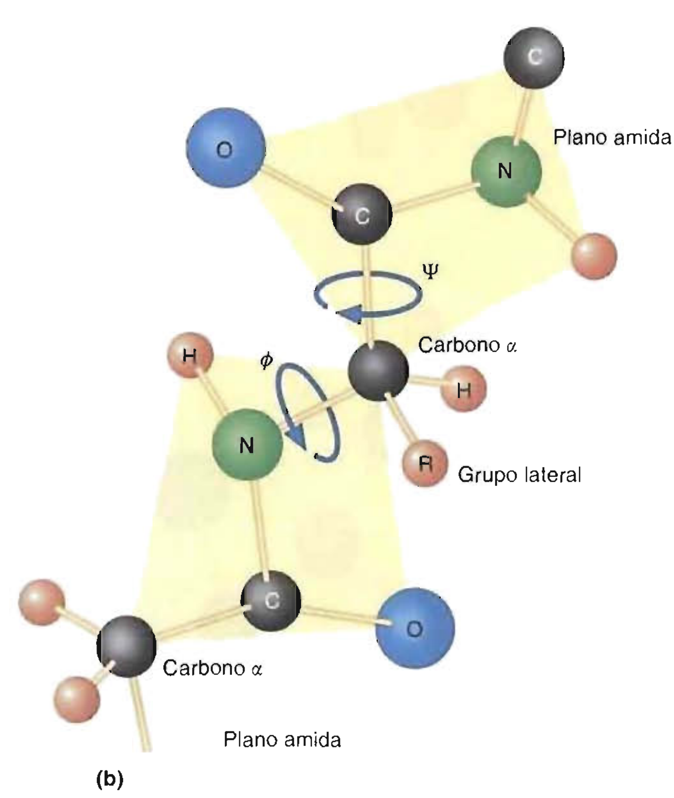


FIGURA 5-12

Enlace peptídico.

(a) Formas de resonancia del enlace peptídico. (b) Dimensiones de un dipéptido. Los grados de libertad conformacionales de una cadena polipeptídica están limitados a giros alrededor de los enlaces $C_\alpha-C$ y $C_\alpha-N$, por ser rígidos los enlaces peptídicos. Los giros correspondientes se representan respectivamente como ψ y ϕ.

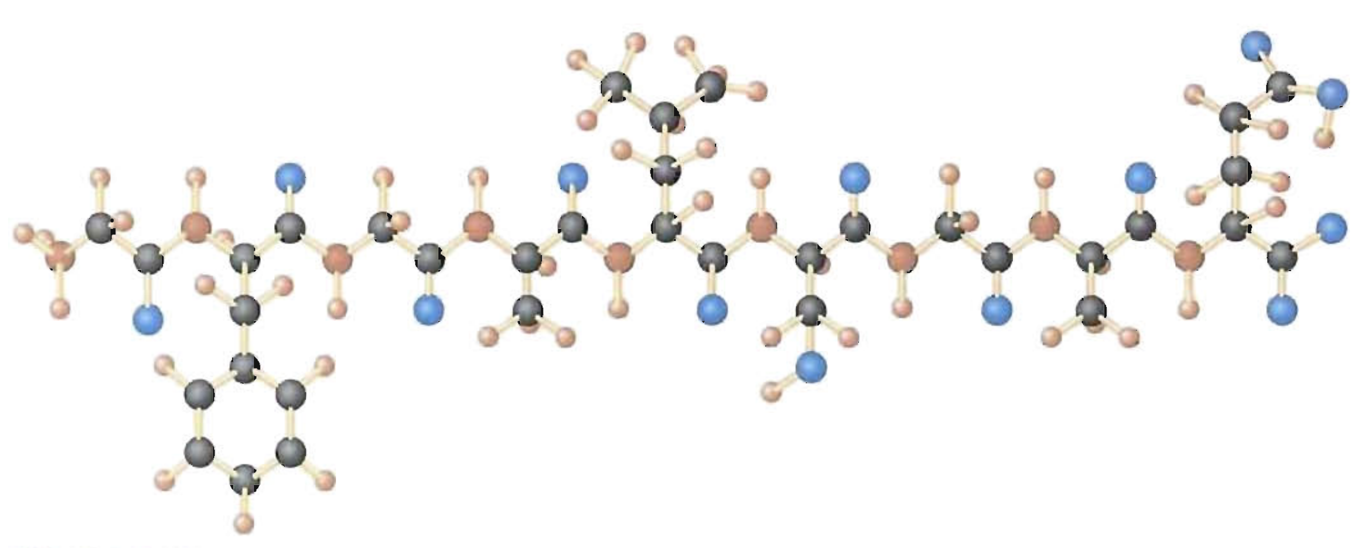


FIGURA 5-13

Cadena polipeptídica.

En los polipéptidos los grupos R sucesivos se encuentran en lados alternos de los enlaces peptídicos. Obsérvese que esta ilustración es una proyección diagramática de una cadena polipeptídica extendida, no una representación de una estructura nativa.

Dos cisteínas

−2H ⇌ +2H

Cistina

FIGURA 5-14

Oxidación de dos moléculas de cisteína para formar cistina.

El enlace disulfuro en un polipéptido se denomina puente disulfuro.

CONCEPTOS CLAVE 5.5

Los polipéptidos son polímeros formados por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. El orden de los aminoácidos en el polipéptido se denomina secuencia de aminoácidos. Los puentes disulfuro, formados por la oxidación de residuos de cisteína, son un elemento estructural importante en los polipéptidos y las proteínas.

molécula que contiene un enlace disulfuro (Fig. 5.14). Cuando dos residuos de cisteína forman un enlace así, éste se denomina **puente disulfuro**. Este enlace puede producirse en una única cadena para formar un anillo o entre dos cadenas separadas para formar un puente intermolecular. Los puentes disulfuro ayudan a estabilizar muchos polipéptidos y proteínas.

PREGUNTA 5.4



En los líquidos extracelulares, como la sangre, los grupos sulfhidrilo de la cisteína se oxidan rápidamente para formar cistina. Desafortunadamente, la cistina es el menos soluble de los aminoácidos. En una enfermedad genética denominada *cistinuria*, el transporte defectuoso de la cistina a través de la membrana da lugar a una eliminación excesiva de cistina en la orina. La cristalización del aminoácido produce la formación de cálculos en el riñón, el ureter o la vejiga urinaria. Los cálculos pueden producir dolor, infección y pérdida de sangre en la orina. La concentración de cistina en el riñón se reduce aumentando de forma masiva la ingestión de líquidos y la administración de D-penicilamina. Se cree que la penicilamina (Fig. 5.15) es eficaz debido a que se forma el disulfuro de penicilamina-cisteína, que es sustancialmente más soluble que la cistina. ¿Cuál es la estructura del disulfuro de penicilamina-cisteína?

5.2. PÉPTIDOS

Aunque sus estructuras son menos complejas que las de las moléculas proteicas más grandes, los péptidos poseen actividades biológicas significativas. Se considera ahora la estructura y función de varios ejemplos interesantes, que se presentan en el Cuadro 5.3.

El tripéptido glutatión (γ-glutamil-L-cisteinilglicina) contiene un enlace γ-amida poco habitual. (Obsérvese que al enlace peptídico contribuye el grupo γ-carboxilo del residuo de ácido glutámico y no el grupo α-carboxilo.) El glutatión que se encuentra en casi todos los organismos participa en muchos procesos biológicos importantes, entre los que se encuentran la síntesis de proteínas y de DNA, el metabolismo de fármacos y toxinas ambientales, y el transporte de aminoácidos. Un grupo de las funciones del glutatión explota su efectividad como agente reductor. (Debido a que el componente reductor de la molécula es el grupo —SH del residuo de cisteína, la abreviatura de glutatión es GSH.) El glutatión protege a las células de los efectos destructores de la oxidación por las reacciones con sustancias como los peró-

H_3C—C(CH_3)(SH)—CH(NH_2)—C(=O)—OH

FIGURA 5-15

Estructura de la penicilamina.

CUADRO 5-3

Péptidos seleccionados de importancia biológica

Nombre	Secuencia de aminoácidos
Glutatión	$^{-}O-C(=O)-CH(NH_3^+)-CH_2-CH_2-C(=O)-NH-CH(CH_2-SH)-C(=O)-NH-CH_2-C(=O)-O^{-}$
Oxitocina	Cys—Tyr—Ile—Gln—Asn—Cys—Pro—Leu—Gly—NH_2 (S—S entre Cys y Cys)
Vasopresina	Cys—Tyr—Phe—Gln—Asn—Cys—Pro—Arg—Gly—NH_2 (S—S entre Cys y Cys)
Met-encefalina	Tyr—Gly—Gly—Phe—Met
Leu-encefalina	Tyr—Gly—Gly—Phe—Leu
Factor natriurético auricular	Ser[1]—Leu—Arg—Arg—Ser—Ser—Cys—Phe—Gly—Gly[10]—Arg—Met—Asp—Arg—Ile—Gly—Ala—Gln—Ser—Gly—Leu—Gly—Cys—Asn—Ser—Phe—Arg—Tyr[28]
Sustancia P	Arg—Pro—Lys—Pro—Gln—Phe—Phe—Gly—Leu—Met—NH_2
Bradiquinina	Arg—Pro—Pro—Gly—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg
Hormona estimulante de los α-melanocitos	Ser—Tyr—Ser—Met—Glu—His—Phe—Arg—Trp—Gly—Lys—Pro—Val
Colecistoquinina	Lys—Ala—Pro—Ser—Gly—Arg—Met—Ser—Ile—Val—Lys—Asn—Leu—Gln—Asn—Lys—Asp—Pro—Ser—His—Arg—Ile—Ser—Asp—Arg—Asp—Tyr—(SO_3)—Met—Gly—Trp—Met—Asp—Phe—NH_2
Galanina	Gly—Trp—Thr—Leu—Asn—Ser—Ala—Gly—Tyr—Leu—Leu—Gly—Pro—His—Ala—Val—Gly—Asn—His—Arg—Ser—Phe—Ser—Asp—Lys—Asn—G Gly—Leu—Thr—Ser
Neuropéptido Y	Tyr—Pro—Ser—Lys—Pro—Asp—Asn—Pro—Gly—Glu—Asp—Ala—Pro—Ala—Glu—Asp—Met—Ala—Arg—Tyr—Tyr—Ser—Ala—Leu—Arg—His—Tyr—Ile—Asn—Leu—Ile—Thr—Arg—Gln—Arg—Tyr—C(=O)—NH_2

xidos, R—O—O—R, productos derivados del metabolismo del O_2. Por ejemplo, en los eritrocitos, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) oxida el hierro de la hemoglobina a su forma férrica (Fe^{3+}). La metahemoglobina, el producto de esta reacción, es incapaz de unir O_2. El glutatión protege frente a la formación de metahemoglobina reduciendo el H_2O_2 en una reacción catalizada por la enzima glutatión peroxidasa. En el producto oxidado GSSG, dos dipéptidos están unidos por un enlace disulfuro:

$$2\ GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$$

El glutatión es un agente intracelular importante debido al cociente elevado GSH:GSSG que se encuentra normalmente en las células.

PREGUNTA 5.5

Escriba la estructura completa de la oxitocina. ¿Cuál sería la carga neta de esta molécula a pH 4?, ¿y a pH 9? Indique los átomos de la oxitocina que potencialmente forman enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua.

Los péptidos son una clase de moléculas señalizadoras que utilizan los organismos multicelulares para regular sus complejas actividades. Recuerde que los organismos multicelulares que están formados por varios cientos de clases de células deben coordinar un número inmenso de procesos bioquímicos. La interrelación dinámica entre los procesos opuestos, denominada *homeostasis*, mantiene un ambiente interno esta-

ble. En la actualidad se conocen moléculas peptídicas con funciones opuestas que afectan a la regulación de numerosos procesos. Entre los ejemplos se encuentran el comportamiento alimentario, la presión sanguínea y los receptores del dolor. A continuación se describen las funciones de algunos péptidos en cada uno de estos procesos.

La regulación de la ingestión de alimento y del peso corporal parece ser considerablemente más complicada de lo que antes se pensaba. La investigación de las causas de la obesidad (peso corporal excesivo), un problema importante de salud en los países industrializados, ha demostrado que diversas moléculas señalizadoras del cerebro afectan al comportamiento alimentario. Entre éstas se encuentran los péptidos estimuladores del apetito, como el neuropéptido Y (NPY) y la galanina, y los péptidos inhibidores del apetito como la colecistoquinina y la hormona estimulante de los melanocitos α (α-MSH). Los avances recientes sugieren que la leptina, una proteína que liberan principalmente los adipocitos (células grasas), reduce la ingestión de alimento al descender la expresión de los genes que codifican el NPY, la galanina y otras moléculas señalizadoras que estimulan el apetito.

La presión sanguínea, la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de los vasos sanguíneos, está influida por varios factores, como el volumen sanguíneo y la viscosidad. Dos péptidos que afectan al volumen sanguíneo son la vasopresina y el factor natriurético auricular. La vasopresina, que también se denomina hormona antidiurética (ADH), contiene nueve residuos de aminoácido. Se sintetiza en el hipotálamo, una pequeña estructura del cerebro que regula una gran variedad de funciones, entre las que se encuentran el equilibrio hídrico y el apetito. La ADH se transporta por las conducciones nerviosas hasta la hipófisis en la base del cerebro y se libera en respuesta a la disminución de la presión sanguínea o a una elevación de la concentración de Na^+. La ADH estimula la retención de agua por los riñones. La estructura de la ADH es notablemente semejante a la de otro péptido producido en el hipotálamo que se denomina oxitocina, una molécula señalizadora que estimula la salida de la leche por las glándulas mamarias durante la lactancia e influye sobre el comportamiento sexual, maternal y social. La oxitocina que se produce en el útero estimula la contracción del músculo uterino durante el parto. Dado que la ADH y la oxitocina tienen estructuras semejantes, no es sorprendente que las funciones de las dos moléculas se solapen. La oxitocina tiene una ligera actividad antidiurética y la vasopresina tiene cierta actividad del tipo oxitocina. El factor natriurético auricular (ANF), un péptido que produce células especializadas del corazón como respuesta al estiramiento y en el sistema nervioso, estimula la producción de una orina diluida, un efecto opuesto al de la vasopresina. El ANF ejerce su efecto, en parte, aumentando la eliminación de Na^+, un proceso que aumenta la eliminación de agua, e inhibiendo la secreción de renina por el riñón. (La renina es una enzima que cataliza la formación de angiotensina, una hormona que contrae los vasos sanguíneos.)

La met-encefalina y la leu-encefalina pertenecen a un grupo de péptidos denominados **péptidos opiáceos**, que se encuentran predominantemente en las células del tejido nervioso. Los péptidos opiáceos son moléculas que alivian el dolor (un mecanismo protector en los animales que avisa del daño tisular) y producen sensaciones placenteras. Se descubrieron cuando los investigadores sospecharon que los efectos fisiológicos de los fármacos opiáceos, como la morfina, se producían como consecuencia de su unión a receptores de las células nerviosas para moléculas endógenas. La leu-encefalina y la met-encefalina son peptapéptidos que se diferencian sólo en sus residuos de aminoácido C-terminales. La sustancia P y la bradiquinina estimulan la percepción del dolor, un efecto al que se oponen los péptidos opiáceos.

5.3. PROTEÍNAS

De todas las moléculas que se encuentran en los seres vivos, las proteínas son las que tienen las funciones más diversas, como sugiere la siguiente relación:

1. **Catálisis**. Las *enzimas* son proteínas que dirigen y aceleran miles de reacciones bioquímicas en procesos como la digestión, la captura de energía y la biosín-

tesis. Estas moléculas tienen propiedades notables. Por ejemplo, pueden aumentar la velocidad de reacción por factores comprendidos entre 10^6 y 10^{12}. Pueden realizar esta proeza en condiciones de pH y temperatura suaves, dado que pueden inducir o estabilizar intermediarios de reacción forzados. Entre los ejemplos se encuentran la ribulosa fosfato carboxilasa, una enzima importante en la fotosíntesis y la nitrogenasa, un complejo proteico que es responsable de la fijación del nitrógeno.

2. **Estructura**. Algunas proteínas proporcionan protección y sostén. Las proteínas estructurales suelen tener propiedades muy especializadas. Por ejemplo, el colágeno (el componente principal de los tejidos conjuntivos) y la fibroína (proteína de la seda) poseen una fuerza mecánica significativa. La elastina, una proteína semejante a la goma que se encuentra en las fibras elásticas, se encuentra en varios tejidos del organismo (p. ej., los vasos sanguíneos y la piel) que para operar adecuadamente deben ser elásticos.

3. **Movimiento**. Las proteínas participan en todos los movimientos celulares. Por ejemplo, la actina, la tubulina y otras proteínas forman el citoesqueleto. Las proteínas del citoesqueleto son activas en la división celular, la endocitosis, la exocitosis y el movimiento ameboide de los leucocitos.

4. **Defensa**. Una extensa variedad de proteínas son protectoras. Entre los ejemplos que se encuentran en los vertebrados están la queratina, la proteína que se encuentra en las células de la piel y que ayuda a proteger al organismo contra los daños mecánicos y químicos. Las proteínas de la coagulación de la sangre, fibrinógeno y trombina, impiden la pérdida de sangre cuando los vasos sanguíneos se lesionan. Las inmunoglobulinas (o anticuerpos) las producen los linfocitos cuando organismos ajenos, como las bacterias, invaden un organismo. La unión de los anticuerpos a un organismo invasor es el primer paso para su destrucción.

5. **Regulación**. La unión de una molécula hormonal o un factor de crecimiento a receptores en sus células diana modifica la función celular. Entre los ejemplos de hormonas peptídicas se encuentra la insulina y el glucagón, ambos regulan la concentración de glucosa en sangre. La hormona del crecimiento estimula el crecimiento celular y la división. Los factores de crecimiento son polipéptidos que controlan la división y la diferenciación de las células animales. Entre los ejemplos están el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

6. **Transporte**. Muchas proteínas actúan como moléculas transportadoras de moléculas o iones a través de las membranas o entre las células. Entre los ejemplos de proteínas de membrana están la Na^+-K^+ ATPasa y el transportador de glucosa. Otras proteínas transportadoras son la hemoglobina, que lleva el O_2 a los tejidos desde los pulmones, y las lipoproteínas LDL y HDL, que transportan los lípidos desde el hígado y el intestino a otros órganos. La transferrina y la ceruloplasmina son proteínas séricas que transportan, respectivamente, hierro y cobre.

7. **Almacenamiento**. Determinadas proteínas actúan como reserva de nutrientes esenciales. Por ejemplo, durante el desarrollo la ovoalbúmina de los huevos de las aves y la caseína de la leche de los mamíferos son fuentes abundantes de nitrógeno orgánico. Las proteínas vegetales, como la zeína, realizan una función semejante en las semillas que germinan.

8. **Respuesta a las agresiones**. La capacidad de los seres vivos para sobrevivir a diversos agresores abióticos está mediada por determinadas proteínas. Entre los ejemplos se encuentran el citocromo P_{450}, un grupo diverso de enzimas que se encuentran en los animales y las plantas que normalmente convierten a un gran número de contaminantes orgánicos tóxicos en derivados menos tóxicos, y la metalotioneína, una proteína intracelular con abundante cisteína que virtualmente se encuentra en todas las células de los mamíferos y que se une a los metales tóxicos como el cadmio, el mercurio y la plata, y los secuestra. Las temperaturas excesivamente elevadas y otras agresiones dan lugar a la síntesis de una clase de proteínas denominadas **proteínas de choque térmico** (hsp) que consiguen el plegamiento correcto de las proteínas dañadas. Si esas proteínas se dañan de forma grave, las hsp estimulan su degradación. (Determinadas hsp actúan en el proceso normal de plegamiento proteico.) Las células están protegidas de la radiación por enzimas reparadoras de DNA.

Dada su diversidad, las proteínas suelen clasificarse de otras dos maneras: (1) forma y (2) composición. Las proteínas se clasifican en dos grupos principales de acuerdo con su forma. Como su nombre sugiere, las **proteínas fibrosas** son moléculas largas con forma de varilla que son insolubles en agua y físicamente correosas. Las proteínas fibrosas, como las queratinas de la piel, el pelo y las uñas, tienen funciones estructurales y protectoras. Las **proteínas globulares** son moléculas esféricas compactas, normalmente hidrosolubles. De forma característica, las proteínas globulares tienen funciones dinámicas. Por ejemplo, casi todas las enzimas tienen estructuras globulares. Otros ejemplos son las inmunoglobulinas y las proteínas de transporte hemoglobina y albúmina (un transportador de ácidos grasos en la sangre).

De acuerdo con su composición, las proteínas se clasifican en simples o conjugadas. Las proteínas simples, como la albúmina sérica y la queratina, contienen sólo aminoácidos. Por el contrario, cada **proteína conjugada** consta de una proteína simple combinada con un componente no proteico, que se denomina **grupo prostético**. (Una proteína sin su grupo prostético se denomina **apoproteína**. Una molécula proteica combinada con su grupo prostético se denomina **holoproteína**.) Los grupos prostéticos desempeñan un papel importante, a veces crucial, en la función de las proteínas. Las proteínas conjugadas se clasifican de acuerdo con la naturaleza de su grupo prostético. Por ejemplo, las **glucoproteínas** contienen un componente hidrato de carbono, las **lipoproteínas** contienen moléculas de lípidos, y las **metaloproteínas** contienen iones metálicos. De manera semejante, las **fosfoproteínas** contienen grupos fosfato y las **hemoproteínas** poseen grupos hemo (pág. 144).

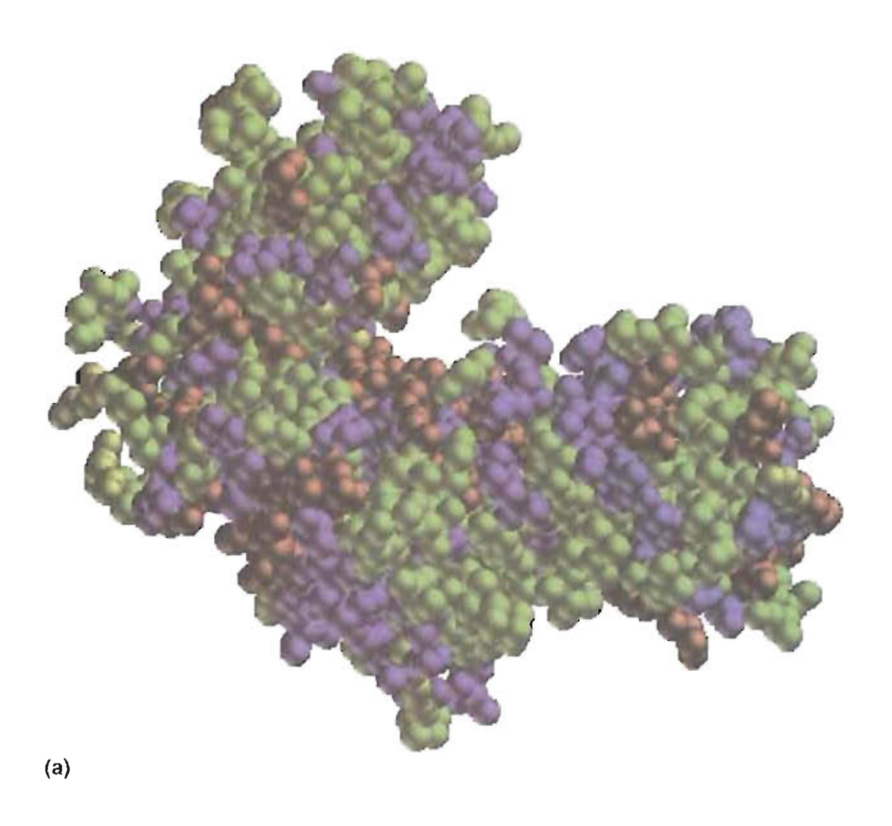
Estructura proteica

Las proteínas son moléculas extraordinariamente complejas. Los modelos completos que dibujan aun las más pequeñas de las cadenas polipeptídicas son casi imposible de comprender. Son útiles las imágenes más simples que resaltan las características específicas de una molécula. En la Figura 5.16 se muestran dos métodos de presentar la información estructural sobre las proteínas. En las Figuras 5.29 y 5.31 puede verse otra representación estructural, que se denomina modelo de bolas y bastones (págs. 145 y 149).

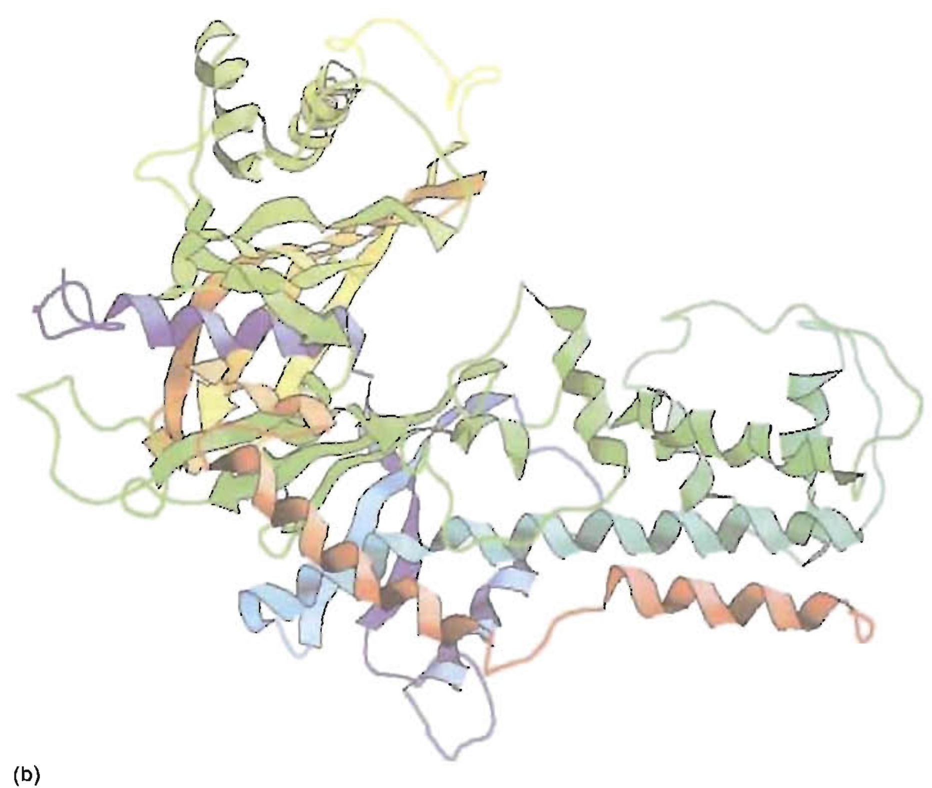
Los bioquímicos han diferenciado varios niveles en la organización estructural de las proteínas. La **estructura primaria**, la secuencia de aminoácidos, está especificada por la información genética. Al plegarse la cadena polipeptídica se forman determinadas disposiciones localizadas de los aminoácidos adyacentes que constituyen la **estructura secundaria**. La forma tridimensional global que asume un polipéptido se denomina **estructura terciaria**. Las proteínas que constan de dos o más cadenas polipeptídicas (o subunidades) se dice que tienen **estructura cuaternaria**.

ESTRUCTURA PRIMARIA Cada polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos específica. Las interacciones entre los residuos de aminoácidos determinan la estructura tridimensional de la proteína, su papel funcional y sus relaciones con otras proteínas. Los polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos y funciones semejantes se dice que son **homólogos**. Las comparaciones de secuencias de polipéptidos homólogos han sido utilizadas para trazar las relaciones genéticas de las distintas especies. Por ejemplo, las homologías de secuencia de la proteína redox mitocondrial citocromo c se han utilizado mucho en el estudio de la evolución. Las comparaciones de la secuencia del citocromo c de numerosas especies ha descubierto una cantidad significativa de conservación de la secuencia. Los residuos de aminoácidos que son idénticos en las proteínas homólogas, que se denominan *invariables*, se supone que son esenciales para la función de la proteína. (En el citoctromo c los residuos invariables interaccionan con el hemo, un grupo prostético, o determinadas proteínas que participan en la generación de energía.)

ESTRUCTURA PRIMARIA, EVOLUCIÓN Y ENFERMEDADES MOLECULARES Dada la función esencial del citocromo c en la producción de energía, los organismos individuales con sustituciones de aminoácidos en posicio-



(a)



(b)

FIGURA 5-16

La enzima adenilato quinasa.

(a) Modelo de relleno espacial que ilustra el volumen ocupado por los componentes moleculares y la forma global. (b) En el modelo de cintas los segmentos plegados están representados por flechas. Las hélices aparecen como cintas espirales.

nes invariables no son viables. Las mutaciones (alteraciones de las secuencias de DNA que codifican la secuencia de aminoácidos de una proteína) son acontecimientos espontáneos y aleatorios. Por lo tanto, con el tiempo se produce un número significativo de cambios de la secuencia primaria que no afectan a la función del polipéptido. Algunas de estas sustituciones se dice que son *conservadoras*, ya que se sustituye un aminoácido con una cadena lateral químicamente semejante. Por ejemplo, en determinadas posiciones de la secuencia, la leucina y la isoleucina, que contienen ambas cadenas laterales hidrófobas, pueden sustituirse una por la otra, sin que se afecte la función. Algunas posiciones de la secuencia son significativamente menos estrictas. Estos residuos, a los que se denomina *variables*, aparentemente realizan papeles inespecíficos en la función del polipéptido.

Las sustituciones en lugares conservadores y variables se han utilizado para trazar las relaciones evolutivas. Estos estudios suponen que cuanto mayor es el tiempo desde que dos especies se han separado, mayor es el número de diferencias en la estructura primaria de un determinado polipéptido. Por ejemplo, el ser humano y el chimpancé se supone que se han separado hace relativamente poco tiempo (quizá hace sólo cuatro millones de años). Esta suposición, que se fundamenta principalmente en las pruebas fósiles y anatómicas, la sostienen los datos de la secuencia primaria del citocromo c, ya que la proteína es idéntica en ambas especies. Los animales como los canguros, las ballenas y las ovejas, cuyas moléculas de citocromo c se diferencian cada una en 10 residuos de la proteína humana, se cree evolucionaron a partir de un antecesor común que vivió hace unos 50 millones de años.

Algunas mutaciones son perjudiciales sin que sean inmediatamente letales. La drepanocitosis, que está producida por una hemoglobina mutante, es un ejemplo clásico de un grupo de enfermedades a las que Linus Pauling y sus colaboradores denominaron **enfermedades moleculares**. (El Dr. Pauling fue el primero que demostró utilizando la electroforesis que los pacientes con drepanocitosis tienen una hemoglobina mutante.) La hemoglobina del ser humano adulto (HbA) está formada por dos cadenas α idénticas y dos cadenas β idénticas. La drepanocitosis es consecuencia de la sustitución de un único aminoácido en la cadena β de la HbA. El análisis de las moléculas de hemoglobina de los pacientes con drepanocitosis revela que la única diferencia entre la HbA y la hemoglobina drepanocítica (HbS) se encuentra en el residuo del aminoácido 6 de la cadena β (Fig. 5.17). Debido a la sustitución de un ácido glutámico con carga positiva por una valina hidrófoba, las moléculas de HbS se agregan para formar estructuras en forma de varilla en el estado desoxigenado. Los eritrocitos del paciente adquieren una forma de hoz y son susceptibles a la hemólisis, lo que produce una anemia grave. La capacidad de unión al oxígeno de estos eritrocitos está reducida. La obstrucción intermitente de los capilares por las células con forma de hoz hace también que no llegue suficiente oxígeno a los tejidos. La drepanocitosis se caracteriza por un dolor muy agudo, el consiguiente daño orgánico y la muerte prematura.

Hasta hace poco tiempo, debido a la naturaleza debilitante de la drepanocitosis, las personas afectadas no solían sobrevivir más allá de la infancia. Podía predecirse que el cambio mutacional perjudicial que produce esta enfermedad sería eliminado rápidamente de las poblaciones humanas. Sin embargo, el gen de la drepanocitosis no es tan poco frecuente como podría suponerse. La drepanocitosis se produce en las

CONCEPTOS CLAVE 5.6

La estructura primaria de un polipéptido es su secuencia de aminoácidos. Los aminoácidos están conectados por enlaces peptídicos. Los residuos de aminoácidos que son esenciales para la función de la molécula se denominan invariables. Las proteínas con secuencias de aminoácidos y funciones semejantes se denominan homólogas.



Hb A Val—His—Leu—Thr—Pro—Glu—Glu—Lys—

Hb S Val—His—Leu—Thr—Pro—Val—Glu—Lys—

1 2 3 4 5 6 7 8

FIGURA 5-17

Segmentos de la cadena β en la HbA y la HbS.

Las personas que poseen el gen de la hemoglobina drepanocítica producen cadenas β con valina en lugar de ácido glutámico en el residuo 6.

personas que han heredado dos copias del gen drepanocítico. Estas personas que se dice son *homocigotas*, heredan una copia del gen defectuoso de cada progenitor. Cada uno de los progenitores, que se denominan *heterocigotos*, porque tienen un gen HbA normal y un gen HbS defectuoso, se dice que tienen un *rasgo drepanocítico*. Estas personas llevan vidas normales a pesar de que un 40% de su hemoglobina es HbS. La incidencia del rasgo drepanocítico es especialmente elevada en algunas regiones de África. En estas regiones el paludismo, producido por el parásito *Plasmodium* del mosquito *Anopheles*, es un problema de salud grave. Las personas con el rasgo drepanocítico son menos vulnerables al paludismo debido a que sus eritrocitos suponen un ambiente menos favorable para el crecimiento del parásito que las células normales. Debido a que los portadores del rasgo drepanocítico sobreviven al paludismo con mayor probabilidad que las personas normales, la incidencia del gen drepanocítico ha permanecido elevada. (En algunas zonas, hasta el 40% de la población nativa tiene el rasgo drepanocítico.)

PREGUNTA 5.6



Una enfermedad genética denominada *deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* se hereda de una forma semejante a la de la drepanocitosis. La enzima defectuosa no puede proporcionar a los eritrocitos cantidades suficientes de la molécula antioxidante NADPH (Capítulo 8). El NADPH protege de la oxidación a las membranas celulares y otras estructuras celulares. Describa en términos generales el patrón de herencia de esta enfermedad molecular. ¿Por qué piensa que el fármaco antipalúdico primaquina, que estimula la formación de peróxidos, produce casos devastadores de anemia hemolítica en los portadores del gen defectuoso? ¿Le sorprende que esta anomalía genética se encuentre frecuentemente en poblaciones africanas y mediterráneas?

ESTRUCTURA SECUNDARIA La estructura secundaria de los polipéptidos consta de varios patrones repetitivos. Los tipos de estructura secundaria que se observan con mayor frecuencia son la hélice α y la lámina plegada β. Tanto la hélice α como la lámina plegada β están estabilizadas por enlaces de hidrógeno entre los grupos carbonilo y N—H del esqueleto polipeptídico. Estos patrones se producen cuando todos los ángulos ϕ (fi) (ángulo de rotación alrededor de C_α—C) en un segmento polipeptídico son iguales y todos los ángulos ψ (psi) (ángulo de rotación alrededor de C_α—N) son iguales (véase la Figura 5.12b). Debido a que los enlaces peptídicos son rígidos, los carbonos α son puntos de giro para la cadena polipeptídica. Varias propiedades de los grupos R (p. ej., tamaño y carga, si hay) unidos al carbono α influyen sobre los ángulos ϕ y ψ. Determinados aminoácidos estimulan o inhiben patrones específicos de estructura secundaria. Muchas proteínas fibrosas están formadas casi en su totalidad por patrones estructurales secundarios.

La *hélice* α es una estructura rígida en forma de varilla que se forma cuando una cadena polipeptídica se retuerce en una conformación helicoidal a derechas (Fig. 5.18). Se forman enlaces de hidrógeno entre el grupo N—H de cada aminoácido y el grupo carbonilo del aminoácido que se encuentra cuatro residuos más adelante. Existen 3.6 residuos de aminoácido por vuelta de la hélice, y el paso (la distancia entre los puntos correspondientes de cada vuelta) es 54 nm. Los grupos R de los aminoácidos se extienden hacia fuera de la hélice. Debido a varias restricciones estructurales (esto es, la rigidez de los enlaces peptídicos y los límites permitidos a los valores de los ángulos ϕ y ψ), determinados aminoácidos no estimulan la formación de hélice α. Por ejemplo, el grupo R de la glicina (un átomo de hidrógeno) es tan pequeño que la cadena polipeptídica puede ser demasiado flexible. Por otro lado, la prolina contiene un anillo rígido que impide que gire el enlace N—C_α. Además, la prolina no tiene grupo N—H para formar los enlaces de hidrógeno intracadena que son cruciales en la estructura de hélice α. Las secuencias de aminoácidos con un número grande de aminoácidos cargados (p. ej., glutamato y aspartato) y grupos R voluminosos (p. ej., triptófano) son también incompatibles con las estructuras de hélice α.

Las *láminas plegadas* β se forman cuando se alinean de lado dos o más segmentos de cadenas polipeptídicas (Fig. 5.19). Cada segmento individual se denomina

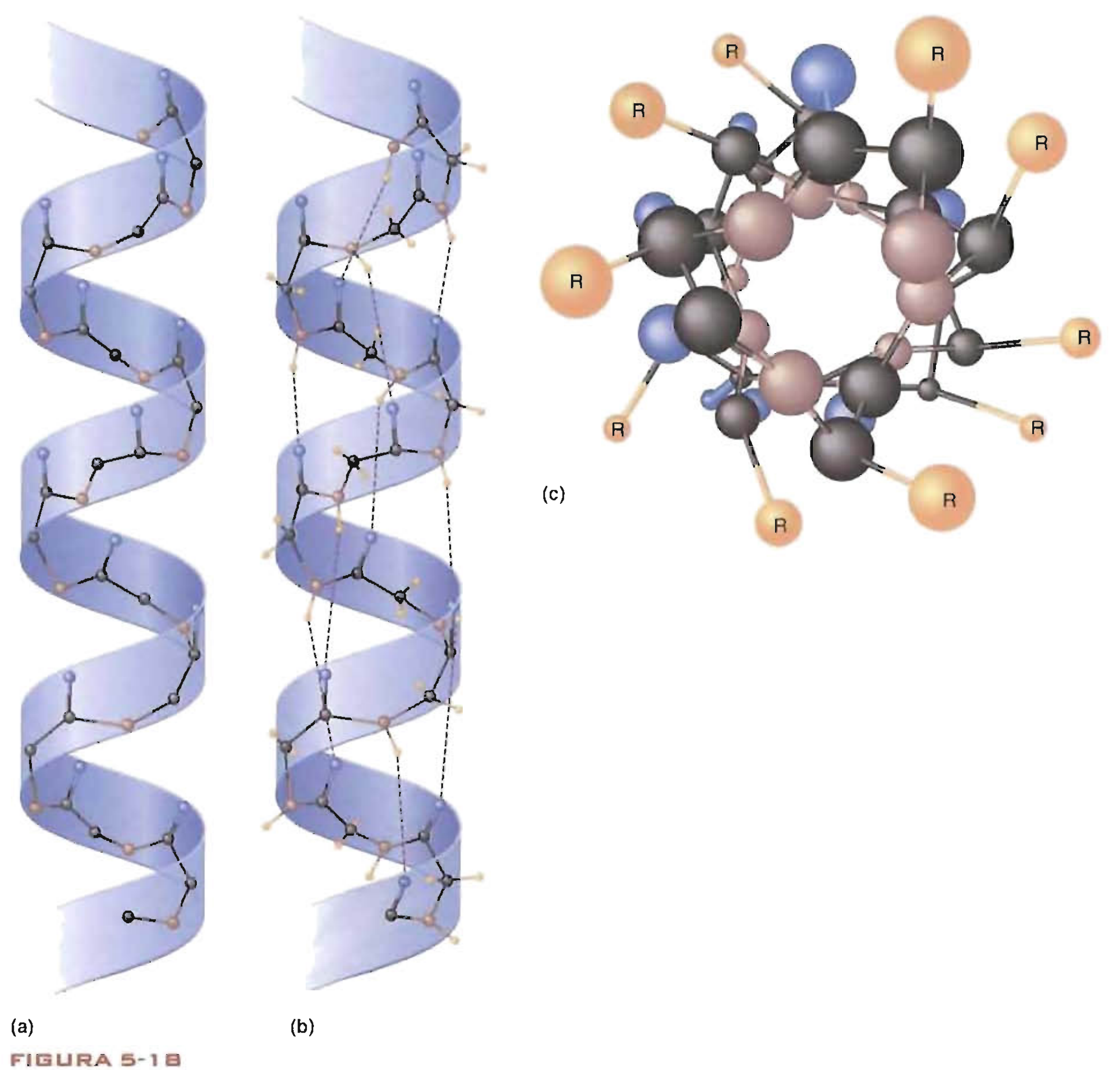


FIGURA 5-18

Hélice α.

(a) Esqueleto helicoidal. (b) Modelo más completo. Los enlaces de hidrógeno se forman entre los grupos carbonilo y N—H a lo largo del eje largo de la hélice. (c) Proyección desde arriba de la hélice . Los grupos R sobresalen del eje largo de la hélice.

una *cadena* β. En lugar de estar enrollada, cada cadena β está totalmente extendida. Las láminas plegadas β están estabilizadas por enlaces de hidrógeno que se forman entre los grupos N—H y carbonilo del esqueleto polipeptídico de cadenas adyacentes. Hay dos tipos de láminas plegadas β: paralelas y antiparalelas. En las estructuras de láminas plegadas β *paralelas* las cadenas polipeptídicas están colocadas en la misma dirección. Las cadenas *antiparalelas* van en direcciones opuestas. Las láminas β antiparalelas son más estables que las láminas β paralelas debido a que se forman enlaces de hidrógeno totalmente colineales. En ocasiones se observan láminas β paralelas y antiparalelas mezcladas.

Muchas proteínas globulares contienen combinaciones de estructuras secundarias de hélice α y lámina plegada β (Fig. 5.20). Estos patrones se denominan **estructuras supersecundarias**. En la *unidad* $\beta\alpha\beta$ están conectadas dos láminas plegadas β paralelas mediante un segmento de hélice α. En el patrón *meandro* β están conectadas dos láminas β antiparalelas mediante aminoácidos polares y glicinas para realizar un cambio brusco de la dirección de la cadena polipeptídica denominada *inver-*

14.0 Å

Antiparalela

13.0 Å

Paralela

(a)

(b)

FIGURA 5-19

Lámina plegada β.

(a) Dos formas de lámina plegada β: antiparalela y paralela. Los enlaces de hidrógeno están representados por líneas punteadas. (b) Una proyección más detallada de la lámina plegada β antiparalela.

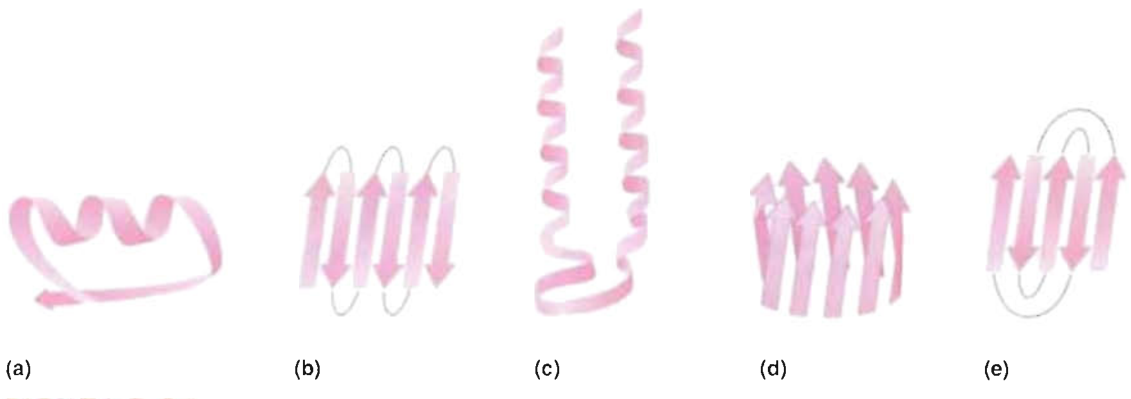


FIGURA 5-20

Estructuras supersecundarias seleccionadas.

(a) unidades $\beta\alpha\beta$, (b) meandro β, (c) unidad $\alpha\alpha$, (d) barril β, y (c) llave griega.

sa o giro β. En las *unidades* $\alpha\alpha$, dos hélices α sucesivas separadas por un lazo o segmento no helicoidal quedan engranadas debido a la compatibilidad de las cadenas laterales. Se forman varias disposiciones de *barriles* β cuando varias configuraciones de lámina β se repliegan sobre sí mismas. Cuando una lámina β antiparalela se dobla sobre sí misma en un patrón que se asemeja a un diseño de alfarería griega, el motivo se denomina *llave griega*.

ESTRUCTURA TERCIARIA Aunque las proteína globulares suelen contener cantidades significativas de elementos estructurales secundarios, otros factores contribuyen a su estructura. El término *estructura terciaria* señala las conformaciones tridimensionales únicas que asumen las proteínas globulares al plegarse en sus estructuras nativas (biológicamente activas). El plegamiento proteico, un proceso en el que una molécula desorganizada *naciente* (recién sintetizada) adquiere una estructura muy organizada, se produce como consecuencia de las interacciones entre las cadenas laterales en su estructura primaria. La estructura terciaria tiene varias características importantes:

1. Muchos polipéptidos se pliegan de forma que los residuos de aminoácido distantes en la estructura primaria quedan cerca.
2. Debido al eficaz empaquetamiento al plegarse la cadena polipeptídica, las proteínas globulares son compactas. Durante este proceso, la mayoría de las moléculas de agua quedan excluidas del interior de la proteína permitiendo las interacciones entre los grupos polares y apolares.
3. Las proteínas globulares grandes (es decir, aquellas con más de 200 residuos de aminoácido) suelen contener varias unidades compactas denominadas dominios. Los dominios (Fig. 5.21) son segmentos estructuralmente independientes que poseen funciones específicas (p. ej., unión de un ion o molécula pequeña).

La estructura terciaria se estabiliza por las interacciones siguientes (Fig. 5.22):

1. **Interacciones hidrófobas**. Al plegarse un polipéptido, los grupos R hidrófobos se acercan debido a que son excluidos del agua. Luego, las moléculas de agua muy ordenadas en cubiertas de solvatación se liberan del interior, aumentando el desorden (entropía) de las moléculas de agua. La variación de entropía favorable es una fuerza impulsora fundamental en el plegamiento proteico

2. **Interacciones electrostáticas**. La interacción electrostática más fuerte en las proteínas se produce entre los grupos iónicos de carga opuesta. Denominados **puentes salinos**, estos enlaces no covalentes sólo son significativos en las regiones de la proteína donde está excluido el agua, debido a la energía que se requiere para eliminar las moléculas de agua de los grupos iónicos cerca de la superficie. Se ha observado que los puentes salinos contribuyen a las interacciones entre las subunidades adyacentes en las proteínas complejas. Lo mismo ocurre con las interacciones electrostáticas más débiles (ion-dipolo, dipolo-dipolo, van der Waals). Son significativas en el interior de la proteína plegada y entre las subunidades o en las interacciones proteína-ligando. (En las proteínas que constan de varias cadenas polipeptídi-

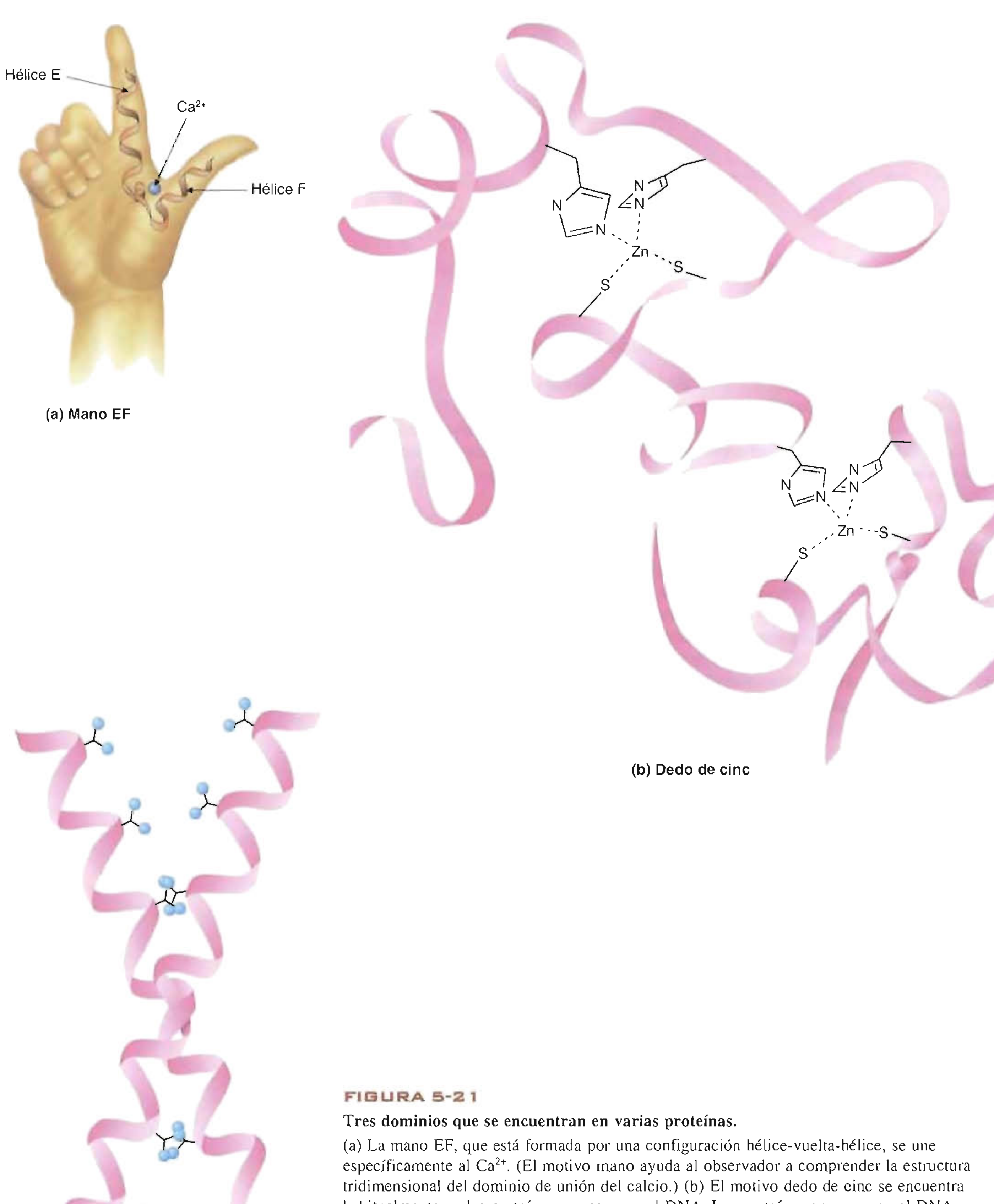


FIGURA 5-21

Tres dominios que se encuentran en varias proteínas.

(a) La mano EF, que está formada por una configuración hélice-vuelta-hélice, se une específicamente al Ca^{2+}. (El motivo mano ayuda al observador a comprender la estructura tridimensional del dominio de unión del calcio.) (b) El motivo dedo de cinc se encuentra habitualmente en las proteínas que se unen al DNA. Las proteínas que se unen al DNA suelen poseer varios dedos de cinc, cada uno de los cuales promueve interacciones proteína-DNA (véase el capítulo 18). Los residuos de cisteína proporcionan los lugares de unión de los dedos de cinc. Los botones sobre la cremallera de leucina representan cadenas laterales.

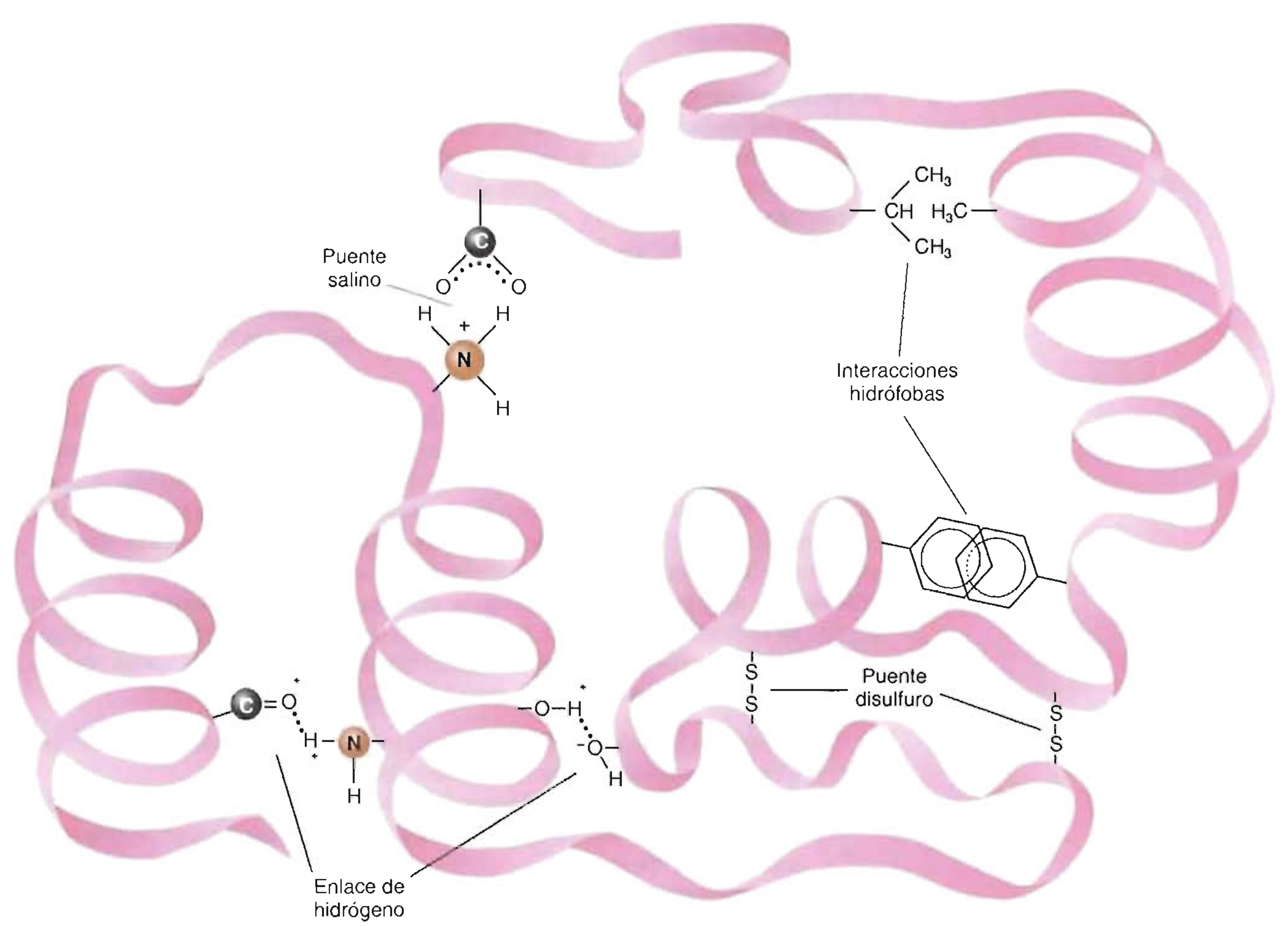


FIGURA 5-22

Interacciones que mantiene la estructura terciaria.

cas cada polipéptido se denomina una **subunidad**. Los **ligandos** son moléculas que se unen a lugares específicos en moléculas mayores, como las proteínas.) Los bolsillos de unión del ligando son regiones sin agua de las proteínas.

3. **Enlaces de hidrógeno**. Se forman un número significativo de enlaces de hidrógeno dentro del interior de una proteína y sobre su superficie. Además de formar enlaces de hidrógeno entre ellas, las cadenas laterales polares de los aminoácidos pueden interaccionar con el agua o con el esqueleto polipeptídico. De nuevo, la presencia de agua impide la formación de enlaces de hidrógeno con otras especies.

4. **Enlaces covalentes**. Las uniones covalentes se crean por reacciones químicas que alteran la estructura del polipéptido durante su síntesis o posteriormente. (En la Sección 19.2 se describen ejemplos de estas reacciones, que se denominan modificaciones posteriores a la traducción.) Los enlaces covalentes más destacados en la estructura terciaria son los puentes disulfuro, que se encuentran en muchas proteínas extracelulares. En los ambientes extracelulares estos enlaces fuertes protegen, en parte, a la estructura proteica de los cambios adversos de pH o de concentración salina. Las proteínas intracelulares no contienen enlaces disulfuro debido a las elevadas concentraciones citoplásmicas de agentes reductores.

No se ha resuelto totalmente cuál es la naturaleza precisa de las fuerzas que impulsan el plegamiento de las proteínas (que se describe con detalle en el Capítulo 19). Sin embargo, está claro que el plegamiento proteico es un proceso termodinámicamente favorable, con una variación de energía libre global negativa. De acuerdo con la ecuación de la energía libre:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

una variación de energía libre negativa en un proceso es el resultado de un equilibrio entre las variaciones de entalpía y entropía favorables y desfavorables. Al plegarse la cadena polipeptídica, los valores de ΔH favorables (negativos) son en parte el resultado del secuestro de las cadenas laterales hidrófobas dentro del interior de la molécula y la optimización de otras interacciones no covalentes. Se oponen a estos factores la disminución desfavorable de la entropía que tiene lugar al plegarse el polipéptido desorganizado en su estado nativo muy organizado. Para la mayoría de las moléculas polipeptídicas la variación de energía libre neta entre los estados plegado y desplegado es relativamente modesta (la energía equivalente a varios enlaces de hidrogeno). El equilibrio precario entre las fuerzas favorables y desfavorables, que se describe en la pág. 138, permite a las proteínas la flexibilidad que requiere la función biológica.

ESTRUCTURA CUATERNARIA Muchas proteínas, especialmente las que tienen pesos moleculares elevados, están formadas por varias cadenas polipeptídicas. Como se ha mencionado, cada componente polipeptídico se denomina una subunidad. Las subunidades en un complejo proteico pueden ser idénticas o bastante diferentes. Las proteínas con varias subunidades en las que alguna o todas las subunidades son idénticas se denominan **oligómeros**. Los oligómeros están formados por **protómeros**, que pueden estar formados por una o varias subunidades. Un gran número de proteínas oligoméricas contienen dos o cuatro subunidades protoméricas, denominadas dímeros y tetrámeros, respectivamente. Parece haber varias razones para que existan las proteínas con varias subunidades:

1. La síntesis de subunidades aisladas es más eficaz que aumentar sustancialmente la longitud de una única cadena polipeptídica.
2. En los complejos supramoleculares, como las fibras de colágeno, la sustitución de componentes más pequeños gastados o dañados puede realizarse de manera más eficaz.
3. Las interacciones complejas de varias subunidades sirven para regular la función biológica de una proteína.

Las subunidades polipeptídicas se ensamblan y se mantienen unidas por interacciones no covalentes, como el efecto hidrófobo, las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno, así como los entrecruzamientos covalentes. Como con el plegamiento proteico, el efecto hidrófobo es claramente el más importante, ya que las estructuras de las superficies de unión complementarias entre las subunidades son semejantes a las observadas en el interior de los dominios de las proteínas globulares. Aunque son menos numerosos, los entrecruzamientos covalentes estabilizan significativamente determinadas proteínas con varias subunidades. Entre los ejemplos más destacados se encuentran los puentes disulfuro de las inmunoglobulinas y los enlaces de desmosina y lisinonorleucina en determinadas proteínas del tejido conjuntivo. Los entrecruzamientos de *desmosina* (Fig. 5.23) conectan cuatro cadenas polipeptídicas en la proteína elastina del tejido conjuntivo, semejante a la goma. Se forman como consecuencia de diversas reacciones que implican la oxidación de las cadenas laterales de lisina. Se produce un proceso semejante en la formación de *lisinonorleucina*, una estructura entrecruzada que se encuentra en la elastina y el colágeno.

Con mucha frecuencia las interacciones entre las subunidades están afectadas por la unión de los ligandos. En el **alosterismo**, el control de la función proteica mediante la unión de ligandos, la unión de un ligando a un lugar específico en una proteína, desencadena un cambio conformacional que altera su afinidad por otros ligandos. Los cambios conformacionales inducidos por el ligando en esas proteínas se denominan **transiciones alostéricas**, y los ligandos que las desencadenan **efectores** o **moduladores**. Los efectos alostéricos pueden ser positivos o negativos, dependiendo de si la unión del efector aumenta o disminuye la afinidad de la proteína por otros ligandos. En las páginas 145-146 y 148-151 se describe uno de los ejemplos de los efectos alostéricos mejor conocido, la unión reversible del O_2 y otros ligandos a la hemoglobina. (Debido a que las enzimas alostéricas desempeñan un papel clave en

CONCEPTOS CLAVE 5.7

Los bioquímicos diferencian cuatro niveles de organización estructural en las proteínas. En la estructura primaria, los residuos de aminoácido están conectados mediante enlaces peptídicos. La estructura secundaria de los polipéptidos está estabilizada por enlaces de hidrógeno. Los ejemplos destacados de estructura secundaria son las hélices α y las láminas plegadas β. La estructura terciaria es la conformación tridimensional única que asume una proteína debido a las interacciones entre las cadenas laterales de los aminoácidos. Varios tipos de interacciones estabilizan la estructura terciaria: el efecto hidrófobo, las interacciones electrostáticas, los enlaces de hidrógeno y determinados enlaces covalentes. Las proteínas que constan de varias subunidades polipeptídicas separadas exhiben una estructura cuaternaria. Las subunidades se mantienen unidas por enlaces no covalentes y covalentes.

Desmosina

$$-NH-CH(-(CH_2)_3-)-C(=O)-$$

Lisinonorleucina

$$HC(-C{=}O)(-HN)-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_4-CH(-C{=}O)(-NH)$$

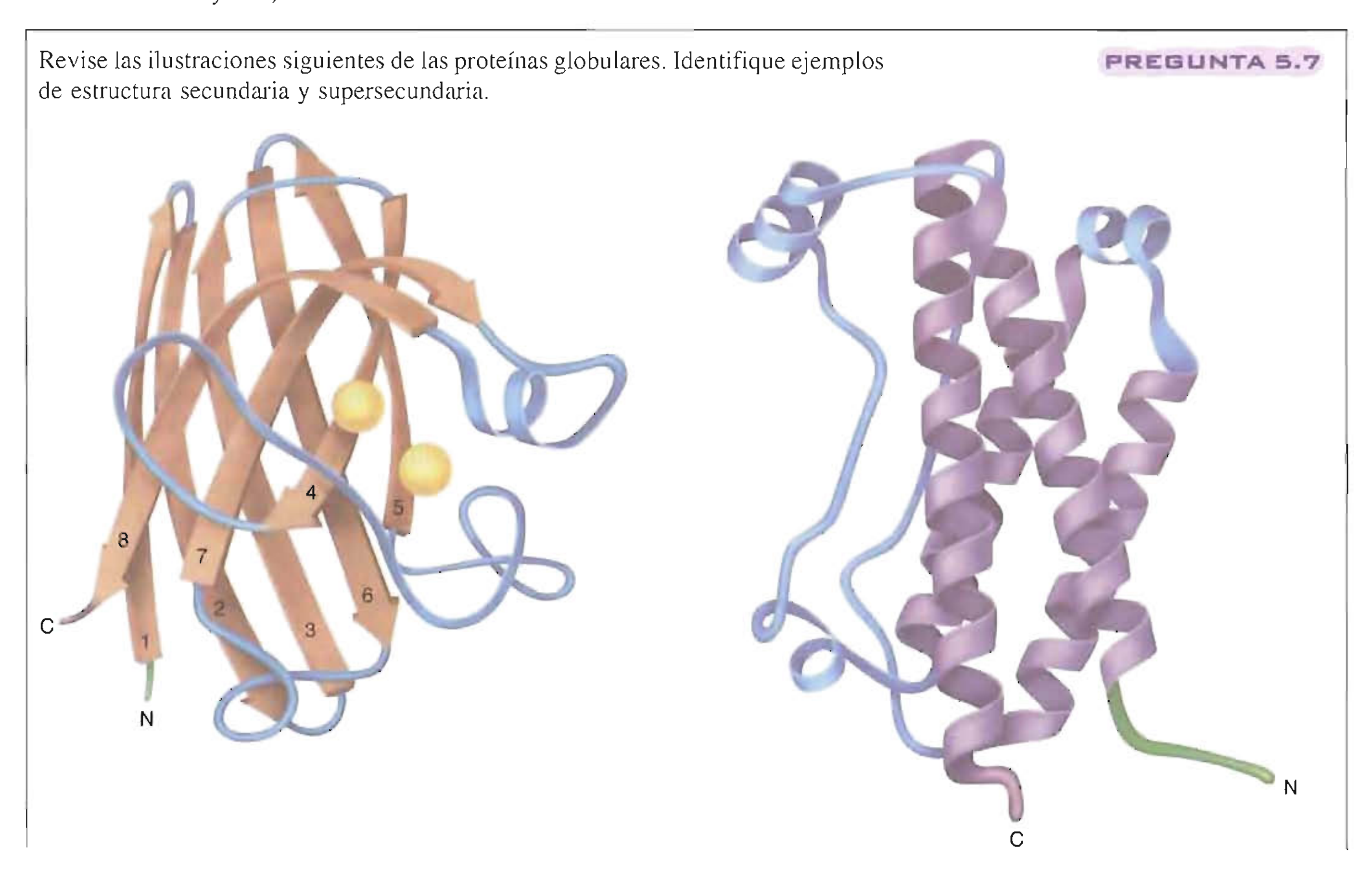
FIGURA 5-23

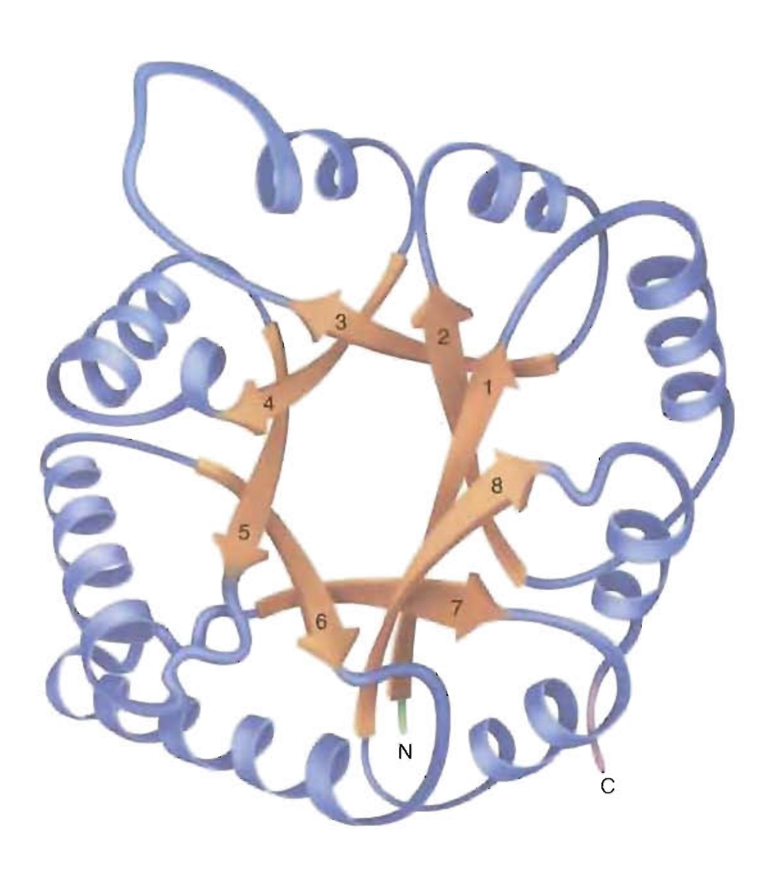
Enlaces de desmosina y lisinonorleucina.

el control de los procesos metabólicos, el alosterismo se considera más adelante, en las Secciones 6.3 y 6.5.)

PREGUNTA 5.7

Revise las ilustraciones siguientes de las proteínas globulares. Identifique ejemplos de estructura secundaria y supersecundaria.





PREGUNTA 5.8

Describa las interacciones no covalentes que pueden producirse entre los grupos de las cadenas laterales siguientes en los polipéptidos plegados: (a) serina y glutamato; (b) arginina y ácido aspártico; (c) treonina y serina; (d) glutamato y aspartato; (e) fenilalanina y triptófano.

DINÁMICA PROTEICA A pesar del énfasis dado hasta ahora a las fuerzas que estabilizan la estructura proteica, debe reconocerse que la función proteica requiere cierto grado de flexibilidad. El significado de la flexibilidad conformacional (fluctuaciones continuas, rápidas de la orientación precisa de los átomos en las proteínas) se ha descubierto al investigarse las interacciones proteína-ligando. La función proteica suele implicar la apertura y el cerrado rápido de cavidades de la superficie de la molécula. La velocidad a la que las enzimas catalizan las reacciones está limitada en parte por la rapidez con la que pueden liberarse del lugar activo las moléculas producto. Recuerde también que la transferencia de información entre las biomoléculas se produce cuando las moléculas con superficies complementarias precisas interaccionan en un proceso con interacciones no covalentes. La transferencia de información entre las moléculas siempre supone modificaciones de la estructura tridimensional. Por ejemplo, las conformaciones de las subunidades de las moléculas de hemoglobina que unen O_2 experimentan cambios estructurales específicos al unirse o separarse las moléculas de oxígeno (pág. 149).

PÉRDIDA DE LA ESTRUCTURA PROTEICA Considerando las pequeñas diferencias de energía libre de las proteínas plegadas y desplegadas, no es sorprendente que la estructura proteica sea especialmente sensible a los factores del entorno. Muchos agentes físicos y químicos pueden romper la conformación nativa de una proteína. El proceso de destrucción de la estructura se denomina **desnaturalización**. (La desnaturalización normalmente no incluye la ruptura de los enlaces peptídicos.) Dependiendo del grado de desnaturalización, la molécula puede perder parcial o totalmente su actividad biológica. La desnaturalización con frecuencia da lugar a cambios observables de las propiedades físicas de las proteínas. Por ejemplo,

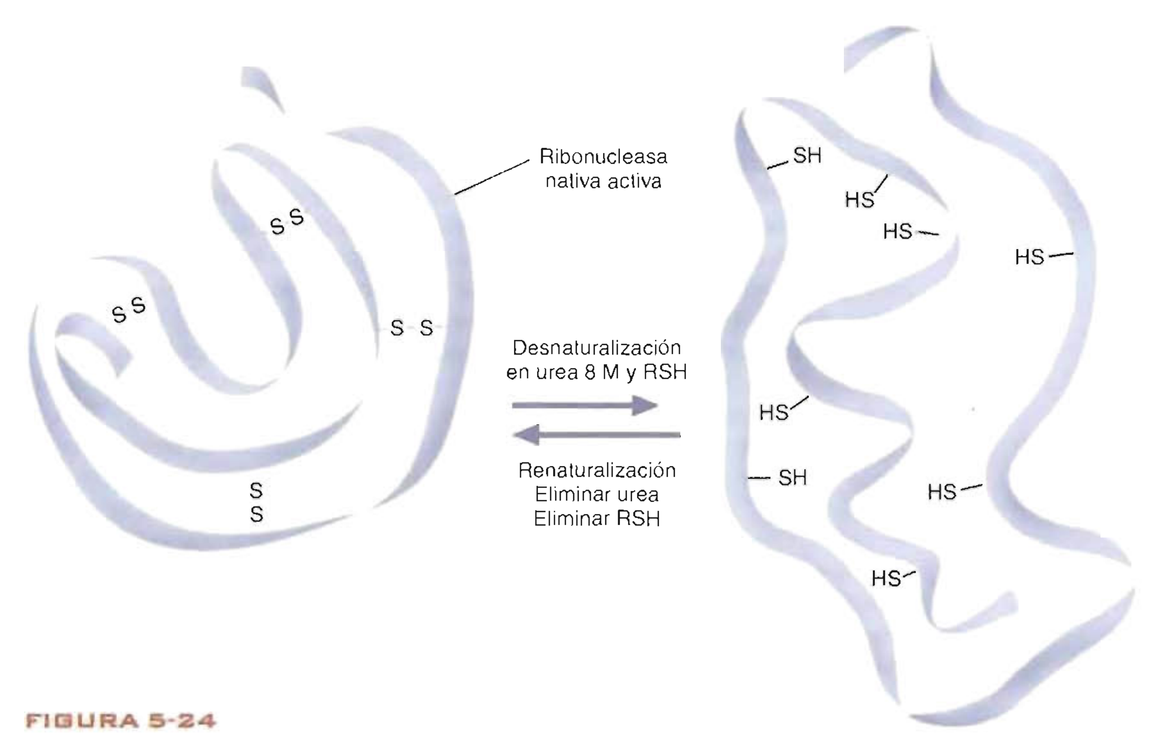


FIGURA 5-24
Experimento de Anfinsen.
La ribonucleasa desnaturalizada por urea 8 M y un mercaptano (RSH; un reactivo que reduce los disulfuros a grupos sulfhidrilos) puede renaturalizarse eliminando la urea y el RSH, y oxidando al aire los disulfuros reducidos.

la albúmina de huevo (clara de huevo) soluble y transparente se hace insoluble y opaca tras calentarla. Como muchas desnaturalizaciones, freír huevos es un proceso irreversible. El ejemplo siguiente de desnaturalización reversible lo comprobó Christian Anfinsen en 1950. La ribonucleasa pancreática de buey (una enzima digestiva que degrada el RNA) se desnaturaliza cuando se trata con β-mercaptoetanol y urea 8 M (Fig. 5.24). Durante este proceso, la ribonucleasa, formada por una única cadena polipeptídica con cuatro puentes disulfuro, se despliega completamente y pierde toda la actividad biológica. La eliminación cuidadosa mediante diálisis de los agentes desnaturalizantes produce el repliegue correcto del polipéptido y se vuelven a formar los enlaces disulfuro. El hecho de que el experimento de Anfinsen conduzca al restablecimiento total de la actividad catalítica de la enzima sirvió como primera prueba de que la estructura tridimensional está determinada por la secuencia de aminoácidos del polipéptido. Sin embargo, la mayoría de las proteínas que se tratan de forma similar no se renaturalizan.

Las principales condiciones desnaturalizantes son las siguientes:

1. **Ácidos y bases fuertes**. Los cambios de pH dan lugar a la protonación de algunos grupos laterales de la proteína, lo cual altera los patrones de enlace del hidrógeno y los puentes salinos. Al acercarse la proteína a su punto isoeléctrico, ésta se hace insoluble y precipita la disolución.
2. **Disolventes orgánicos**. Los disolventes orgánicos hidrosolubles, como el etanol, interfieren con las interacciones hidrófobas, ya que interaccionan con los grupos R apolares y forman enlaces de hidrógeno con el agua y los grupos polares de la proteína.
3. **Detergentes**. Estas moléculas anfipáticas rompen las interacciones hidrófobas, haciendo que se desplieguen las proteínas en cadenas polipeptídicas extendidas. (Las **moléculas anfipáticas** contienen simultáneamente componentes hidrófobos e hidrófilos.)
4. **Agentes reductores**. En presencia de reactivos como la urea, los agentes reductores, como el β-mercaptoetanol, convierten los puentes disulfuro en grupos sulfhidrilos. La urea rompe los enlaces de hidrógeno y las interacciones hidrófobas.

5. Concentración salina. La unión de iones salinos a los grupos ionizables de una proteína disminuye la interacción entre los grupos de carga opuesta sobre la molécula proteica. Las moléculas de agua pueden entonces formar esferas de solvatación alrededor de estos grupos. Cuando se añaden grandes cantidades de sal a una proteína en disolución se forma un precipitado. El gran número de iones salinos puede competir de forma eficaz con la proteína por las moléculas de agua, es decir, se eliminan las esferas de solvatación que rodean a los grupos ionizados de la proteína. Las moléculas proteicas se agregan y luego precipitan. Este proceso se denomina *salting out*. Debido a que el «salting out» es reversible, suele emplearse como un primer paso en la purificación de proteínas.

6. Iones metálicos pesados. Los metales pesados, como el mercurio (Hg^{2+}) y el plomo (Pb^{2+}), afectan de varias maneras a la estructura proteica. Pueden romper los puentes salinos al formar enlaces iónicos con los grupos con carga negativa. Los metales pesados también forman enlaces con los grupos sulfhidrilo, un proceso que puede dar lugar a cambios significativos de la estructura y función proteica. Por ejemplo, el Pb^{2+} se une a los grupos sulfhidrilo de dos enzimas de la ruta de síntesis del hemo (Cap. 14). El descenso de la síntesis de hemoglobina que se produce da lugar a una anemia grave. (En la anemia disminuye por debajo de lo normal el número de eritrocitos o la concentración de hemoglobina.) La anemia es uno de los síntomas que se mide con mayor facilidad en el envenenamiento por plomo (Recuadro de Interés Especial 14.4).

7. Cambios de temperatura. Al aumentar la temperatura, aumenta la velocidad de vibración molecular. Finalmente, se rompen las interacciones débiles como los enlaces de hidrógeno, y la proteína se despliega. Algunas proteínas son más resistentes a la desnaturalización por el calor, y este hecho puede utilizarse en los procedimientos de purificación.

8. Agresión mecánica. Las acciones de agitación y trituración rompen el delicado equilibrio de fuerzas que mantiene la estructura proteica. Por ejemplo, la espuma que se forma cuando se bate vigorosamente la clara de huevo contiene proteína desnaturalizada.

Proteínas fibrosas

Las proteínas fibrosas contienen característicamente proporciones elevadas de estructuras secundarias regulares, como hélices α y láminas plegadas β. Como consecuencia de sus formas de varilla o de láminas, muchas proteínas fibrosas tienen funciones estructurales más que dinámicas. Ejemplos de proteínas fibrosas son la α-queratina, el colágeno y la fibroína de la seda.

α-QUERATINA En las proteínas fibrosas, los haces de polipéptidos helicoidales se enrollan formando grandes haces. La unidad estructural de las α-queratinas, una clase de proteínas que se encuentra en el pelo, la lana, la piel, los cuernos y las uñas, es un polipéptido con hélice α. Cada polipéptido tiene tres dominios: un dominio de «cabeza» amino terminal, un dominio central en forma de varilla con hélice α, y una «cola» carboxilo terminal. Los polipéptidos de queratina se asocian para formar un dímero de ovillo enrollado (Fig. 5.25). Dos hileras de estos dímeros colocadas de forma antiparalela forman una estructura superenrollada a izquierdas denominada protofilamento. Los enlaces de hidrógeno y los puentes disulfuro son las interacciones principales entre las subunidades de protofilamento. Cientos de filamentos, cada uno de ellos con cuatro protofilamentos, se unen para formar una microfibrilla. Cada célula de pelo, llamada también una *fibra*, contiene varias microfibrillas. Por lo tanto, una hebra de pelo consta de numerosas células muertas empaquetadas con moléculas de queratina.

Muchas de las propiedades físicas de las α-queratinas están reflejadas en su composición de aminoácidos. Poseen una estructura regular de hélice α debido a que carecen de aminoácidos que interrumpen la hélice, como la prolina, y tienen residuos que favorecen la hélice, como la alanina y la leucina. Debido a que los grupos R se encuentran en el exterior de las hélices α, el elevado contenido de aminoácidos

Hélice α



Ovillo enrollado de hélices α



Protofilamento (par de ovillos enrollados)



Filamento (cuatro protofilamentos enrollados a derechas)



FIGURA 5-25
Queratina.
Los dominios α-helicoidales en forma de varilla de dos polipéptidos de queratina forman un ovillo enrollado. Dos hileras de estos dímeros colocadas de forma antiparalela forman un protofilamento superenrollado. Centenares de filamentos, cada uno con cuatro protofilamentos, forman una macrofibrilla.

hidrófobos de las α-queratinas hacen a este grupo de proteínas muy poco hidrosoluble. Sus residuos de cisteína y la formación de puentes disulfuro entre las hélices hacen a la α-queratina relativamente resistente al estiramiento. Las queratinas «duras», como las que se encuentran en los cuernos y las uñas, poseen considerablemente más puentes disulfuro que las queratinas que se encuentran en la piel. Los seres humanos han utilizado este contenido elevado de puentes disulfuro del pelo para realizar el proceso de ondulación de éste, denominado permanente. Tras colocar las hebras de pelo en la forma deseada, se rompen los enlaces disulfuro con un agente reductor. Entonces se forman enlaces disulfuro nuevos mediante un agente oxidante, creando así un pelo rizado.

COLÁGENO El colágeno es la proteína más abundante de los vertebrados. La sintetizan las células del tejido conjuntivo, que la segregan al espacio extracelular para formar parte de la matriz del tejido conjuntivo. El colágeno incluye muchas proteínas muy relacionadas que poseen diversas funciones. Las moléculas de colágeno genéticamente distintas de la piel, los huesos, los tendones, los vasos sanguíneos y la cornea proporcionan a estas estructuras muchas de sus propiedades especiales (p. ej., la fuerza tensora de los tendones y la transparencia de la córnea).

El colágeno está formado por tres hélices polipeptídicas a izquierdas que están enrolladas una sobre la otra para formar una triple hélice a derechas (Fig. 5.26). Las moléculas de colágeno tipo I, que se encuentran en los dientes, el hueso, la piel y los tendones, tienen aproximadamente 300 nm de longitud y 1.5 nm de grosor. (Existen 20 familias principales de moléculas de colágeno. Aproximadamente el 90% del colágeno que se encuentra en el ser humano es de tipo I.)

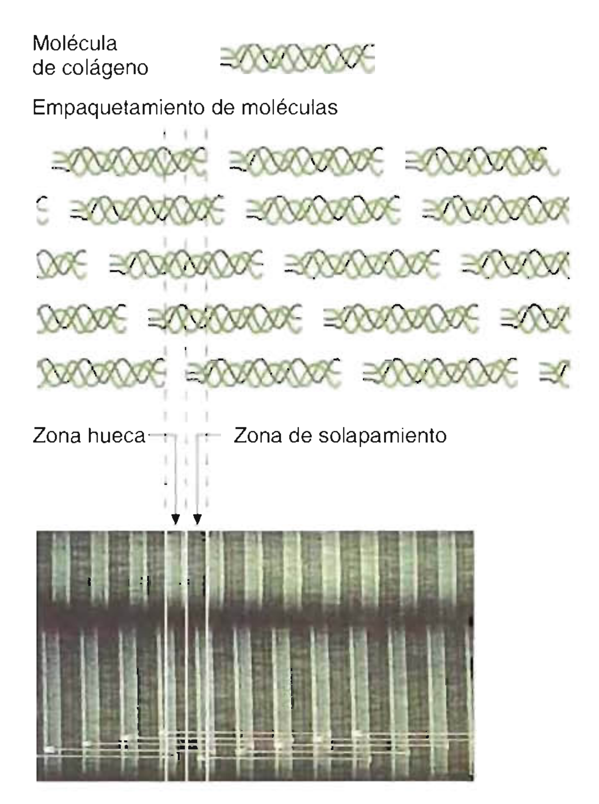


FIGURA 5-26
Fibrillas de colágeno.
Las bandas se forman por moléculas de colágeno escalonadas. Las estriaciones cruzadas están separadas unos 680 Å. Cada molécula de colágeno tiene una longitud de unos 3000 Å.
De Voet y Voet, *Biochemistry*, 2.ª edición. © John Wiley and Sons, Inc, New York, NY.

La composición de aminoácidos del colágeno es característica. La glicina constituye aproximadamente un tercio de los residuos de aminoácido. La prolina y la 4-hidroxiprolina pueden representar hasta el 30% de la composición de aminoácidos de una molécula de colágeno. También se encuentran presentes cantidades pequeñas de 3-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina. (Algunos residuos específicos de prolina y lisina de la secuencia primaria del colágeno se hidroxilan dentro del RE rugoso tras sintetizarse los polipéptidos. Estas reacciones, que se estudian en el Capítulo 19, requieren el antioxidante ácido ascórbico.)

La secuencia de aminoácidos del colágeno está formada principalmente por un gran número de tripletes que se repiten con la secuencia Gly—X—Y, donde X e Y son frecuentemente prolina e hidroxiprolina. También se encuentra en la posición Y la hidroxilisina. Diversos grupos de hidratos de carbono sencillos se encuentran unidos al grupo hidroxilo de residuos de hidroxilisina. Se ha sugerido que se requieren los componentes hidratos de carbono del colágeno para la *fibrilogénesis*, el ensamblaje de las fibras de colágeno en sus localizaciones extracelulares, como los tendones y el hueso. La enzima lisil oxidasa convierte algunos de los grupos laterales de las lisinas y las hidroxilisinas en aldehídos mediante una desaminación oxidativa, lo que facilita la formación no enzimática espontánea de aldimina fortalecida y entrecruzamientos aldólicos. (Las *aldiminas* son bases de Schiff que se forman por la reacción reversible de una amina con un grupo funcional aldehído.) También se producen entrecruzamientos entre los hidratos de carbono ligados a la hidroxilisina y el grupo amino de otros residuos de lisina e hidroxilisina en moléculas adyacentes. El aumento con la edad de los entrecruzamientos conduce a la fragilidad y la rotura de las fibras de colágeno que se produce al envejecer.

La glicina es notable en las secuencias de colágeno debido a que la triple hélice se forma por enlaces de hidrógeno intercadena con participación de residuos de glicina. Por lo tanto, cada tercer residuo está muy cerca de las otras dos cadenas. La glicina es el único aminoácido con un grupo R lo suficientemente pequeño para el espacio disponible. Los grupos R más grandes desestabilizarían la estructura de superhélice. La triple hélice se fortalece aún más por los enlaces de hidrógeno entre los polipéptidos (producidos principalmente por el gran número de residuos de hidroxi-

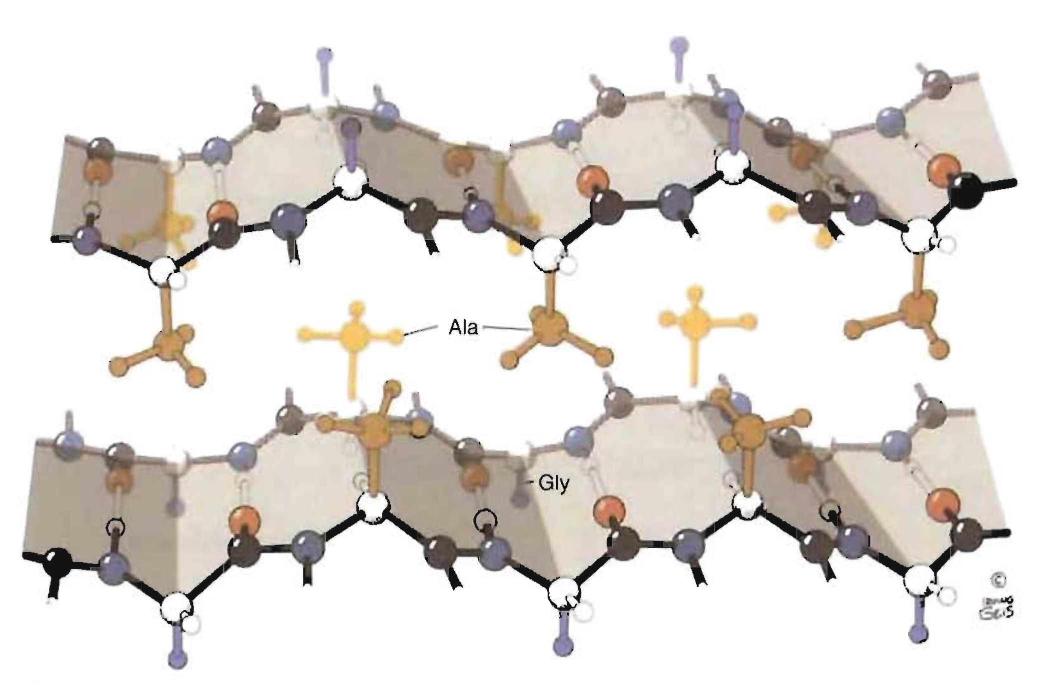


FIGURA 5-27

Modelo molecular de la fibroína de la seda.

Obsérvese que los grupos R de la alanina a cada lado de la lámina plegada β se entremezclan con residuos semejantes de la lámina adyacente.

© Irving Geis (ilustración) de *Biochemistry*, 2.ª ed. De Donald Voet y Judith Voet, publicado por John Wiley & Sons, Inc.

prolina) y los enlaces lisinonorleucina, que estabilizan los dispositivos ordenados de triples hélices en la fibrilla final de colágeno.

FIBROÍNA DE LA SEDA Varios insectos y arañas producen seda, una sustancia que consta de la proteína fibrosa fibroína integrada en una matriz amorfa. En la fibroína, que se considera una β-queratina, las cadenas polipeptídicas están dispuestas en conformaciones de lámina plegada β antiparalelas (Fig. 5.27). Las láminas plegadas β se forman debido al contenido elevado de aminoácidos de la fibroína con grupos R relativamente pequeños, como la glicina y la alanina o la serina. (Los grupos R voluminosos distorsionarían la regularidad casi cristalina de la proteína de la seda.) La seda es un tejido fuerte, ya que las cadenas están totalmente extendidas. Un mayor estiramiento requiere la rotura de enlaces covalentes fuertes de los esqueletos polipeptídicos. Debido a que las láminas plegadas están unidas laxamente una a otra (principalmente con fuerzas de van der Waals débiles), se deslizan fácilmente unas sobre otras. Esta disposición proporciona su flexibilidad a las fibras de seda.

PREGUNTA 5.9

Los entrecruzamientos covalentes contribuyen a la fortaleza del colágeno. La primera reacción en la formación de los entrecruzamientos está catalizada por la enzima lisil oxidasa, que contiene cobre, la cual convierte los residuos de lisina en el aldehído alisina:

$$\underset{\text{Residuo de lisina}}{\begin{array}{l} | \\ C{=}O \\ | \\ CH{-}(CH_2)_4{-}NH_2 \\ | \\ NH \\ | \end{array}} \xrightarrow{\text{Lisil oxidasa}} \underset{\text{Residuo de alisina}}{\begin{array}{l} | \\ C{=}O \\ | \\ CH{-}(CH_2)_3{-}\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}{-}H \\ | \\ NH \\ | \end{array}}$$

La alisina reacciona a continuación con otros grupos aldehído o amino de las cadenas laterales para formar un producto aldol entrecruzado:

$$-NH-CH(C{=}O)-(CH_2)_3-CHO \;+\; OHC-(CH_2)_3-CH(C{=}O)-NH-$$

Residuo de alisina — Residuo de alisina

$$\downarrow$$

$$-NH-CH(C{=}O)-(CH_2)_2-C(CHO){=}CH-(CH_2)_3-CH(C{=}O)-NH-$$

Entrecruzamiento aldólico

(Una reacción en la que los aldehídos forman un enlace aldehído α,β-insaturado se denomina **condensación aldólica**. En las reacciones de condensación se elimina una molécula pequeña, en este caso H_2O.)



En una enfermedad denominada *latirismo*, que se produce en el ser humano y otros animales, una toxina (β-aminopropionitrilo) que se encuentra en los guisantes dulces (*Lathyrus odoratus*) inactiva a la lisil oxidasa. Considere la abundancia de colágeno en los cuerpos animales y sugiera algunos síntomas probables de esta enfermedad.

Proteínas globulares

Las funciones biológicas de las proteínas globulares normalmente implican la unión precisa de pequeños ligandos o grandes macromoléculas como los ácidos nucleicos u otras proteínas. Cada proteína posee una superficie única y compleja que contiene cavidades o hendiduras cuya estructura es complementaria a la de ligandos específicos. Tras la unión del ligando se produce un cambio conformacional de la proteína que está ligado a un suceso bioquímico. Por ejemplo, la unión del ATP a la miosina en las células musculares es un suceso crítico en la contracción muscular.

Las proteínas mioglobina y hemoglobina que unen oxígeno son ejemplos interesantes y bien analizados de proteínas globulares. Ambas son miembros de las hemoproteínas, un grupo especializado de proteínas que contiene el grupo prostético hemo. Aunque el grupo hemo (Fig. 5.28) en ambas proteínas es responsable de la unión reversible del oxígeno molecular, las funciones fisiológicas de la mioglobina y la hemoglobina son significativamente diferentes. Las propiedades químicas del hemo dependen del ion Fe^{2+} en el centro del grupo prostético. El Fe^{2+} forma seis enlaces coordinados. El átomo de hierro está unido a los cuatro nitrógenos en el centro del anillo de protoporfirina. Hay otros dos enlaces coordinados disponibles, uno en cada lado de la estructura plana del hemo. En la mioglobina y la hemoglobina el quinto enlace de coordinación es para el átomo de nitrógeno de un residuo de histidina, y el sexto enlace de coordinación se encuentra disponible para la unión del oxígeno. Además de servir como un reservorio para el oxígeno dentro de las células musculares, la mioglobina facilita la difusión del oxígeno en las células con un metabolismo activo. La función de la hemoglobina, la proteína principal de los eritrocitos, es aportar oxígeno a las células de todo el cuerpo. La comparación de las estructuras de estas dos proteínas explica varios principios importantes de la estructura, la función y la regulación proteica.

Estructura del hemo (porfirina con Fe^{2+} central unido a cuatro N; sustituyentes: CH_3, $CH{=}CH_2$, CH_3, $CH{=}CH_2$, CH_3, CH_3, $CH_2CH_2COO^-$, $CH_2CH_2COO^-$)

FIGURA 5-28

Hemo.

El hemo consta de una anillo de porfirina (formado por cuatro pirroles) con Fe^{2+} en el centro.

MIOGLOBINA La mioglobina, que se encuentra en una concentración elevada en el músculo esquelético y el cardíaco, proporciona a estos tejidos su color rojo

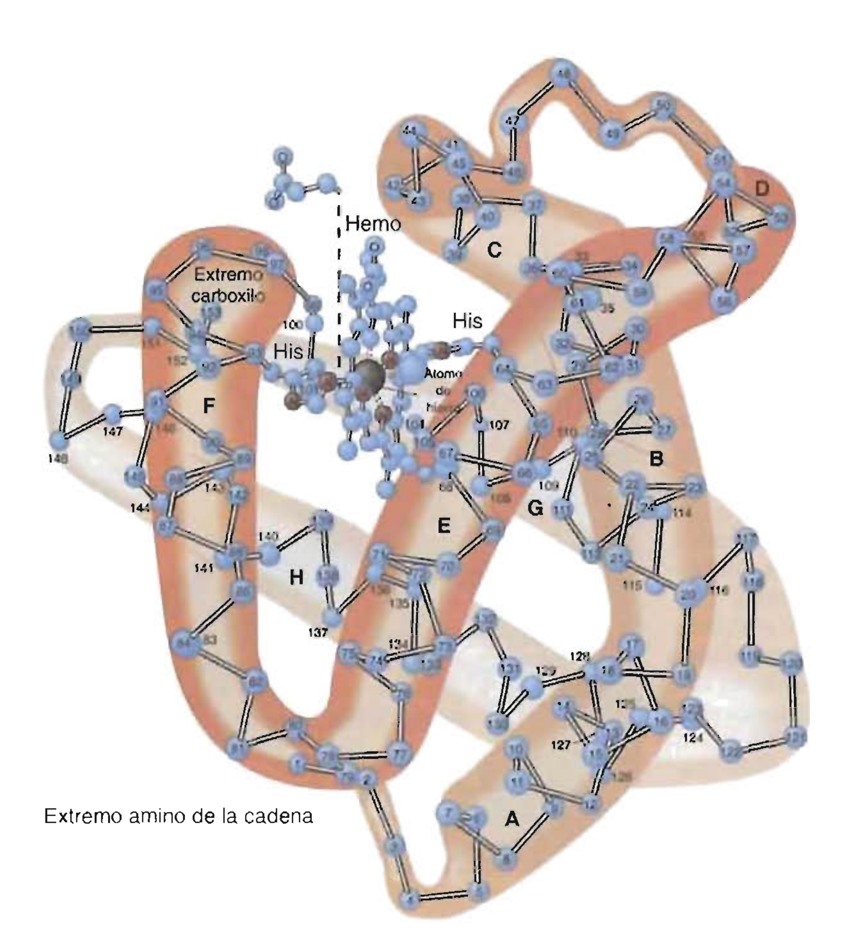


FIGURA 5-29

Mioglobina.

Con la excepción de los grupos de cadena lateral de dos residuos de histidina, sólo se muestran los átomos de carbono α del polipéptido de globina. Las ocho hélices de la mioglobina se designan de la A a la H. El grupo hemo posee un átomo de hierro que se une reversiblemente con el oxígeno. Para mejorar la claridad se ha desplazado una de las cadenas laterales propiónicas del hemo.

© Irving Geis.

característico. Los mamíferos que se sumergen, como las ballenas, que permanecen bajo el agua durante períodos prolongados, poseen concentraciones elevadas de mioglobina en sus músculos. Debido a las concentraciones extremadamente elevadas de mioglobina, estos músculos son característicamente marrones. El componente proteico de la mioglobina, que se denomina globina, es una única cadena polipeptídica que contiene ocho secciones de hélice α (Fig. 5.29). La cadena de globina plegada forma una hendidura que encierra casi completamente al grupo hemo. El hemo libre [Fe^{2+}] posee una afinidad elevada por el O_2 y se oxida de forma irreversible para formar hematina [Fe^{3+}]. La hematina no puede unir el O_2. Las interacciones no covalentes entre las cadenas laterales de los aminoácidos y el anillo de porfirina apolar dentro de la hendidura de unión del oxígeno disminuye la afinidad del hemo por el O_2. La disminución de la afinidad protege al Fe^{2+} de la oxidación y permite la unión reversible del O_2. Todos los aminoácidos que interaccionan con el hemo son apolares, con la excepción de dos histidinas, una de las cuales (la histidina proximal) se une directamente al átomo de hierro del hemo (Fig. 5.30). La otra (la histidina distal) estabiliza el lugar de unión del oxígeno.

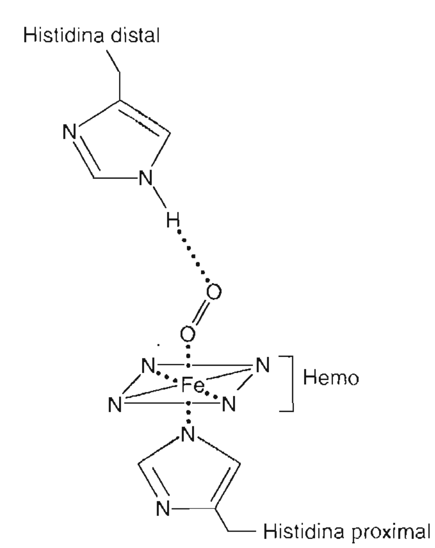


FIGURA 5-30

Lugar de unión del oxígeno del hemo creado por una cadena de globina plegada.

De H.R. Horton, et al., *Principles of Biochemistry*. © 1992, p. 432, fig 4.27. Reproducida con permiso de Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ.

HEMOGLOBINA La hemoglobina es una molécula aproximadamente esférica que se encuentra en los eritrocitos, donde su función principal es transportar oxígeno desde los pulmones a todos los tejidos del cuerpo. Recuerde que la HbA está formada por dos cadenas α y dos cadenas β (Fig. 5.31). La molécula de HbA se denomina $\alpha_2\beta_2$. (Hay otro tipo de hemoglobina en el adulto. Aproximadamente el 2% de la hemoglobina humana es HbA_2, que contiene cadenas δ (delta) en lugar de las cadenas β. Antes del nacimiento se sintetizan otros polipéptidos de hemoglobina. La cadena ε (épsilon), que aparece pronto en la vida embrionaria, y la cadena γ, que se encuentra en el feto, se parecen mucho a la cadena β. Dado que las hemoglobinas $\alpha_2\varepsilon_2$ y $\alpha_2\gamma_2$ poseen una mayor afinidad por el oxígeno que la $\alpha_2\beta_2$ (HbA), el feto puede absorber preferentemente el oxígeno del torrente sanguíneo materno.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 5.1. Venenos proteicos

Algunos organismos patógenos dañan al ser humano produciendo sustancias venenosas denominadas toxinas. Las *toxinas*, muchas de las cuales son proteínas, ejercen sus efectos por varios métodos:

1. dañando las membranas celulares,
2. interrumpiendo varias funciones celulares, e
3. inhibiendo la función en las sinapsis de las células nerviosas.

Las toxinas que actúan directamente sobre las membranas celulares, denominadas toxinas citolíticas, alteran y, finalmente, destruyen las células objetivo. Producidas por muchos organismos (p. ej., bacterias, hongos, plantas, peces y serpientes), las toxinas citolíticas pueden producir los daños de varias formas. Por ejemplo, la estreptolisina O (67 000 D), producida por la bacteria *Streptococcus pyogenes*, ocasiona la formación de poros en las membranas de las células diana. Las células afectadas se lisan rápidamente debido a que la membrana celular es mucho más permeable a los iones como el Na^+. La estreptolisina O se cree produce parte del daño de la fiebre reumática.

La destrucción de la membrana celular puede también producirse por enzimas tóxicas. Por ejemplo, muchos organismos segregan enzimas, denominadas fosfolipasas, que producen la hidrólisis de las moléculas lipídicas de la membrana. La fosfolipasa A_2 se encuentra en el veneno de varias serpientes.

Muchas toxinas interfieren con las funciones intracelulares. Las mejor caracterizadas son la toxina de la difteria y la toxina del cólera, producidas, respectivamente, por las bacterias *Corynebacterium diphteriae* y *Vibrio cholerae*. Ambas toxinas contienen dos subunidades, denominadas A y B. La subunidad A es la responsable del efecto tóxico, mientras que la subunidad B se une a la célula diana. Una vez que ha entrado la toxina de la difteria en la célula diana, se separan las subunidades A y B. La subunidad A, que es una enzima, cataliza una reacción que impide la síntesis de proteínas. La célula muere debido a que no puede sintetizar proteínas. El organismo hospedador muere como consecuencia de la destrucción de los tejidos cardíaco, renal y nervioso.

La subunidad B de la toxina del cólera, que está formada por cinco subunidades idénticas (Fig. 5A), se une a las membranas de las células intestinales. A continuación se inserta la subunidad A en estas células, donde activa una enzima que incrementa la concentración de un nucleótido denominado AMP cíclico (AMPc). Las concentraciones elevadas mantenidas de AMPc, una molécula que abre los canales de cloruro de la membrana, producen una diarrea grave. (La pérdida de cloruro da lugar a una pérdida de agua debido a la presión osmótica. Pueden perderse diariamente varios litros de líquido.) Si no se trata, la deshidratación grave puede ocasionar la muerte en 48 horas, por choque circulatorio desencadenado por el descenso del volumen sanguíneo.

Varias proteínas tóxicas actúan como neurotoxinas destruyendo la actividad de las sinapsis. (Una sinapsis es la unión de dos neuronas o de una neurona y una célula muscular.) El dolor, temblor e irritación de las picaduras de la araña viuda negra los produce la α-latrotoxina (125 000 D). Esta molécula, un único polipéptido, estimula la liberación masiva del neurotransmisor acetilcolina (ACh). De forma diferente, la liberación de ACh está inhibida por la toxina botulínica, una mezcla de varias proteínas producida por la bacteria *Clostridium botulinum*. El botulismo, una enfermedad que suele producirse por la ingestión de comida enlatada contaminada, se caracteriza por vómitos, mareos y, algunas veces, parálisis y muerte. Una especie relacionada *Clostridium tetani*, produce otra neurotoxina mortal. La toxina del tétanos produce una parálisis grave por el bloqueo de la liberación de neurotransmisores (principalmente glicina y ácido γ-aminobutírico) en el sistema nervioso central.

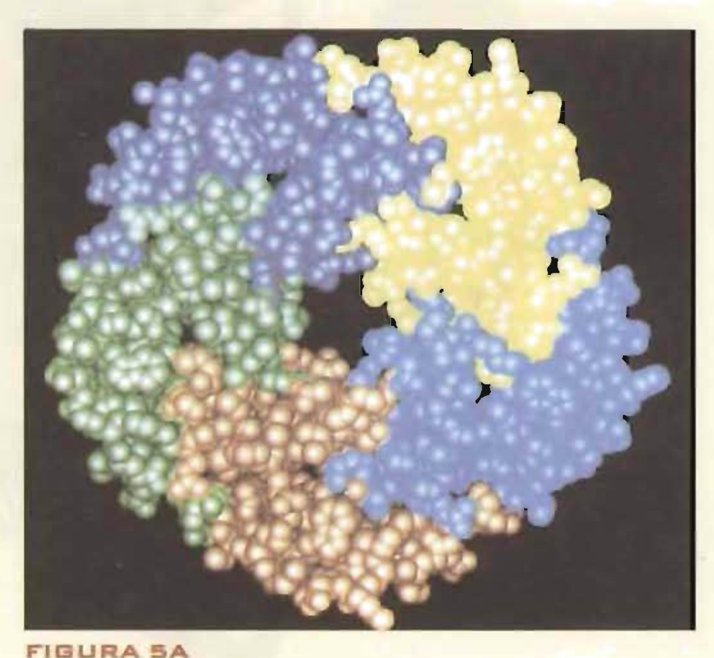


FIGURA 5A
Subunidad B de la toxina del cólera.

Cólera: Una historia breve

Los organismos que producen toxinas, como *V. Cholerae*, no destruyen sólo a los seres humanos individualmente. En determinadas circunstancias pueden afectar a una civilización completa. El cólera ha tenido efectos duraderos en el mundo occidental. Debido a la mejora de los transportes, la epidemia de cólera de la India de 1817 alcanzó Europa. Viajando a una velocidad promedio de 8 kilómeros diarios, la enfermedad dejó millones de muertos. El cólera produjo su primera víctima mortal británica en la ciudad portuaria de Sunderland en 1831. Las 22 000 muertes que se produjeron durante los 2 años siguientes se debieron en gran parte a las condiciones horrorosas de vida durante la Revolución Industrial (Fig. 5B). A pesar de unos esfuerzos intensos, aunque en dirección equivocada, la epidemia de cólera duraba décadas. No se descubrió la forma en que se propagaba la enfermedad hasta que la nueva ciencia que emergía, la estadística, reveló que los responsables eran las malas condiciones sanitarias y el agua contaminada. La presión pública impulsada por las muertes aparentemente sin fin producidas por el cólera, llevaron finalmente al gobierno británico a asumir parte de la responsabilidad de la salud pública, un concepto relativamente moderno. En 1859, el Parlamento británico se comprometió a construir un sistema de alcantarillado en la ciudad de Londres, en ese tiempo el proyecto municipal más grande de su clase nunca realizado. El cólera no volvió nunca más a esa ciudad, y quedó firmemente establecida la relación entre higiene y enfermedades infecciosas. En 1883, el investigador aleman Robert Koch identificó el agente causal.

CHOLERA.

THE

DUDLEY BOARD OF HEALTH,

HEREBY GIVE NOTICE, THAT IN CONSEQUENCE OF THE

Church-yards at Dudley

Being so full, no one who has died of the CHOLERA will be permitted to be buried after *SUNDAY* next, (To-morrow) in either of the Burial Grounds of *St. Thomas's*, or *St. Edmund's*, in this Town.

All Persons who die from CHOLERA, must for the future be buried in the Church-yard at Netherton.

BOARD of HEALTH, DUDLEY.
September 1st, 1832.

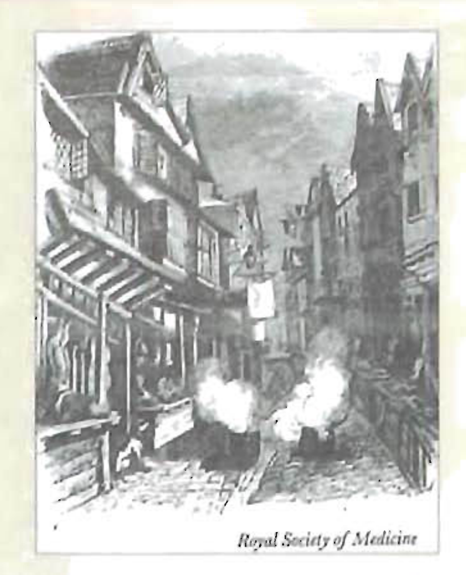

Royal Society of Medicine

FIGURA 5B

Efecto devastador del cólera en Gran Bretaña a mediados del siglo XIX.

(a) Un cartel da testimonio de la gravedad de la epidemia. (b) Quema de alquitrán para destruir la infección en el aire de Exeter. Otros «métodos» para prevenir la diseminación del cólera eran los humos de tabac o y la limpieza con vinagre de trementina.

Terrorismo biológico y carbunco

El terrorismo biológico consiste en el uso de bacterias, virus o toxinas para intimidar o coaccionar a las poblaciones humanas. Los terroristas biológicos son criminales que buscan conseguir objetivos políticos que no pueden obtener por medios legales no violentos. En su última encarnación, el terrorismo biológico ha tomado la forma de cartas contaminadas con carbunco enviadas a personas notables del gobierno y las comunicaciones en las semanas posteriores al desastre de las Torres Gemelas. El carbunco es una enfermedad que afecta principalmente a los animales de granja (ovejas, terneros y caballos) y que está producida por la bacteria grampositiva *Bacillus anthracis*. Conocido desde los tiempos de la Biblia (se cree que es una de las diez plagas que se mencionan en el Éxodo, Capítulo 9), el carbunco ha desempeñado un papel importante en la historia de la medicina y la microbiología. En 1876, Robert Koch demostró que *B. anthracis* es el agente causal del carbunco. Las técnicas que diseñó mientras investigaba el carbunco y posteriormente la tuberculosis le condujeron al enunciado de los postulados de Koch, método que aún se utiliza para identificar las causas de las enfermedades infecciosas que se descubren. Louis Pasteur obtuvo la primera vacuna artificial contra la enfermedad y, en 1881, demostró de forma concluyente a una comunidad científica escéptica que la vacunación de las ovejas y los terneros podía resistir la, de otra forma, inyección mortal de la bacteria viva.

El carbunco se inicia por la exposición a endosporas resistentes al calor de *B. anthracis* (una forma durmiente del organismo) que puede persistir en el suelo o en los productos animales durante décadas. Las esporas penetran en el cuerpo a través de las abrasiones de la piel (carbunco cutáneo), los pulmones (carbunco por inhalación) o la ingestión de alimentos contaminados (carbunco digestivo). Tras inhalar las endosporas (la forma más mortífera de la enfermedad) se absorben por los macrófagos, las células del sistema inmunitario que ingieren ordinariamente y destruyen a las bacterias invasoras y a otro material extraño. Sin embargo, los macrófagos son incapaces de destruir las endosporas, ya que su cubierta capsular está formada por un polímero no digerible formado por residuos de ácido D-glutámico. En su lugar, las endosporas germinan en bacterias vegetativas (que se dividen de forma activa) que producen la enfermedad hasta que los macrófagos estallan. Si es suficiente la exposición a las endosporas, las bacterias, que se dividen rápidamente, pueden superar al sistema inmunitario y dispersarse por todo el organismo. El carbunco generalizado produce pocos días después de la aparición de los primeros síntomas, semejantes a una gripe, una hipotensión (descenso de la tensión sanguínea) grave, shock y, en algunos casos, meningitis. La capacidad del microorganismo para infligir este daño masivo es posible por tres toxinas, que juntas inactivan las defensas inmunitarias esenciales, se rompen dentro de las células e interrumpen los mecanismos normales de señalización. Una vez que las células bacterianas se han liberado a la sangre, segregan sus toxinas. El antígeno protector (AP), que se denominó así antes de descubrirse su función, se une a los receptores de la superficie celular. Una vez en la superficie celular, siete moléculas de la toxina AP experimentan una activación proteolítica y se ensamblan en una estructura con forma de rosquilla. A continuación este complejo se une a las enzimas tóxicas factor letal (FL) y factor de edema (FE) y las inserta dentro de la célula en un proceso semejante a la endocitosis. El FL, la causa principal de la muerte, es una proteasa (una enzima que rompe los enlaces peptídicos de las proteínas) dependiente de cinc que rompe el complejo sistema de señalización intracelular. Su efecto más devastador es hacer que los macrófagos liberen cantidades masivas de moléculas inflamatorias que inducen el shock. El FE produce una hinchazón masiva (edema) en los tejidos afectados. Si no se detiene la infección mediante antibióticos, como la penicilina, los efectos combinados de estas toxinas causan la muerte.

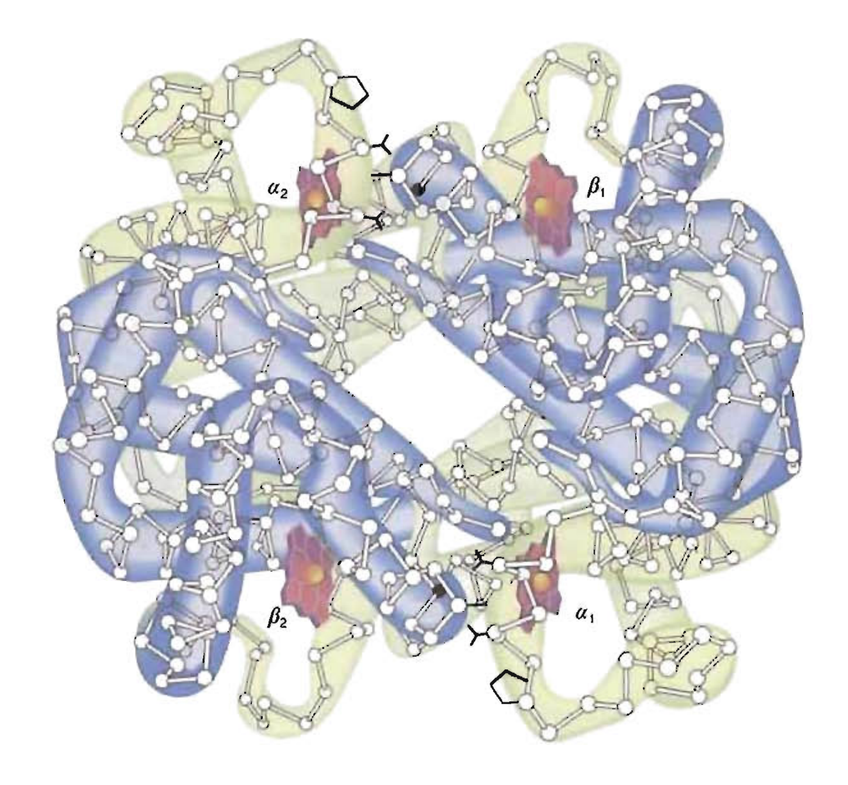


FIGURA 5-31

Hemoglobina.

La proteína contiene cuatro subunidades, denominadas α y β. Cada subunidad contiene un grupo hemo que se une reversiblemente con el oxígeno.

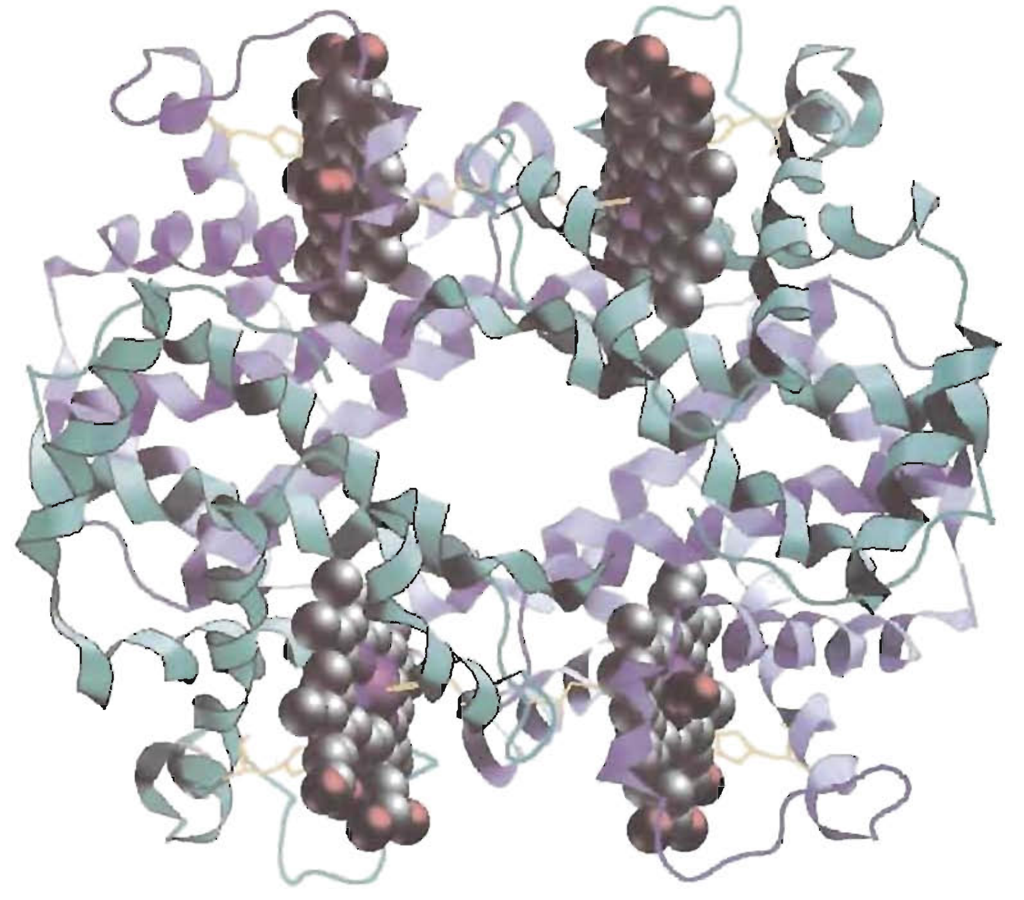


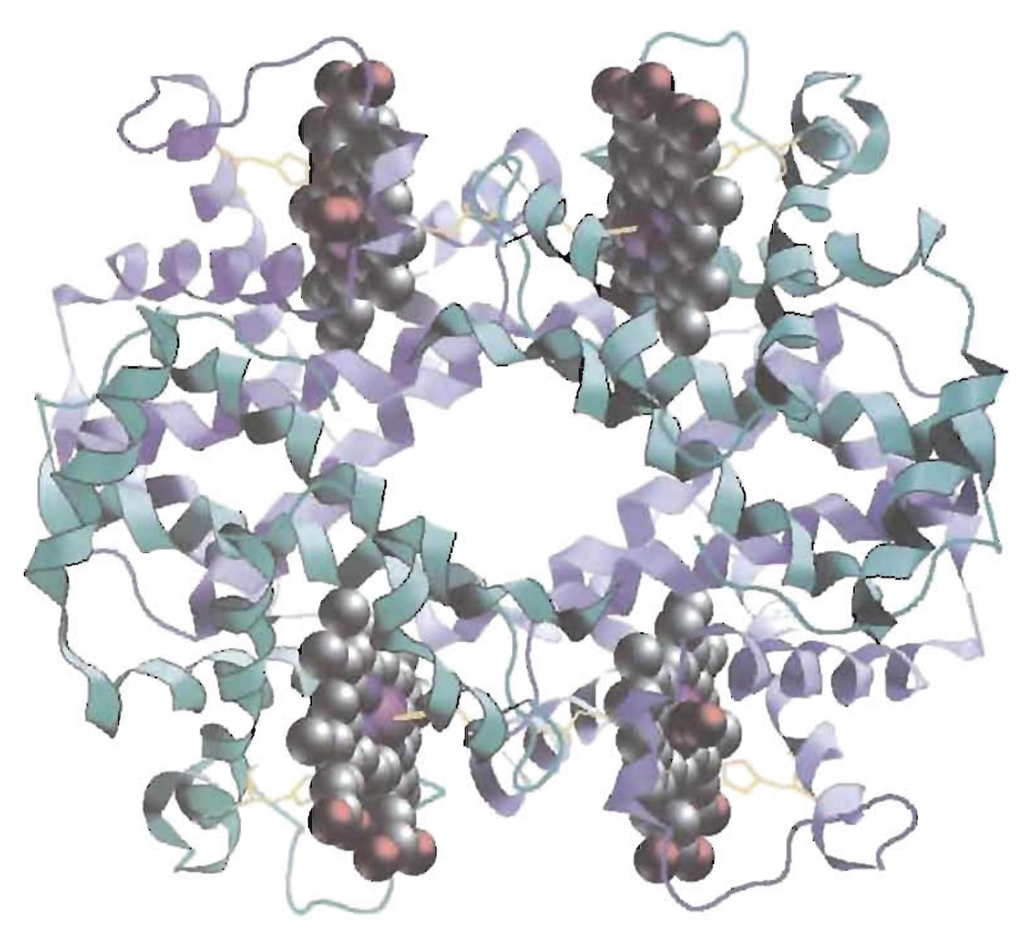
FIGURA 5-32

Estructura tridimensional de (a) oxihemoglobina y (b) desoxihemoglobina.

Las cadenas β se encuentran en la parte superior. En la transformación oxi-desoxi, los dímeros $\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$ se mueven como unidades, uno con relación a otro. Esto permite la unión del 2,3-bisfosfoglicerato (considerada en la pág. 15) a la cavidad central más grande en la conformación desoxi.

Aunque las configuraciones tridimensionales de la mioglobina y de las cadenas α y β de la hemoglobina son muy semejantes, sus secuencias de aminoácidos poseen muchas diferencias. La comparación de estas moléculas de docenas de especies ha descubierto nueve residuos de aminoácido invariables. Varios residuos invariables afectan directamente el lugar de unión del oxígeno, mientras que otros estabilizan los segmentos peptídicos de hélice α. Los residuos restantes pueden variar considerablemente. Sin embargo, la mayoría de las sustituciones son conservadoras. Por ejemplo, cada interior del polipéptido permanece apolar.

Las cuatro cadenas de la hemoglobina están dispuestas en dos dímeros idénticos, que se designan $\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$. Cada polipéptido de globina posee una unidad de unión del hemo semejante a la descrita para la mioglobina. Aunque tanto la mioglobina como la hemoglobina unen oxígeno de forma reversible, la última molécula posee una estructura compleja y unas propiedades de unión más complicadas. Las numerosas interacciones no covalentes (principalmente hidrófobas) entre las subunidades en cada dímero $\alpha\beta$ permanecen en gran medida sin alterar cuando la hemoglobina se interconvierte entre sus formas oxigenada y desoxigenada (Fig. 5.32). De forma diferente, el número relativamente pequeño de interacciones entre los dos dímeros cambia de forma sustancial durante esta transición. Cuando la hemoglobina está oxigenada, los puentes salinos se rompen y determinados enlaces de hidrógeno al deslizarse los dímeros $\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$ uno sobre otro y girar 15° (Fig. 5.33). La conformación desoxigenada de la hemoglobina (desoxiHb) suele denominarse estado T (tau) y la hemoglobina oxigenada (oxiHb) se dice que está en el estado R (relajado). Los reajustes inducidos por el oxígeno en los contactos entre los dímeros son casi simultáneos. En otras palabras, un cambio conformacional en una subunidad se propaga rápidamente a las otras subunidades. Por consiguiente, la hemoglobina se alterna entre dos conformaciones estables, los estados T y R.



(b)

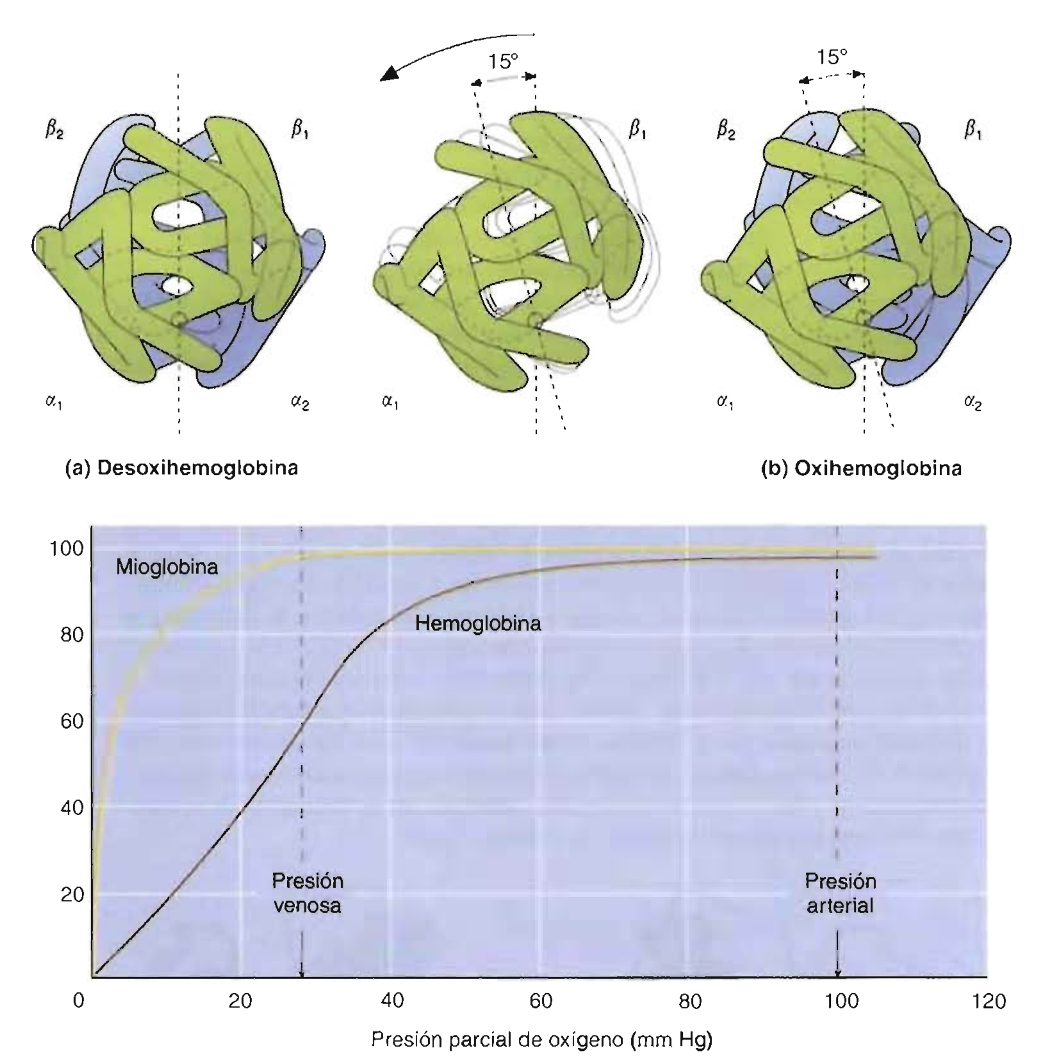


FIGURA 5-33

Transición alostérica de la hemoglobina.

Cuando se oxigena la hemoglobina, los dímeros $\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$ se deslizan uno sobre otro y giran 15°. (a) desoxihemoglobina, (b) oxihemoglobina.

FIGURA 5-34

Las curvas de equilibrio miden la afinidad de la hemoglobina y la mioglobina por el oxígeno.

Debido a las interacciones de las subunidades, la curva de disociación del oxígeno posee una forma sigmoidea (Fig. 5.34). La unión del primer O_2 a la hemoglobina potencia la unión de otro O_2 a la misma molécula. Este patrón de unión, que se denomina **unión cooperativa**, es consecuencia de los cambios de la estructura tridimensional de la hemoglobina que se inician cuando se une el primer O_2. La unión del primer O_2 facilita la unión de las tres moléculas de O_2 restantes a las moléculas tetraméricas de hemoglobina. En los pulmones, donde la tensión de O_2 es elevada, la hemoglobina se satura rápidamente (convertida al estado R). En los tejidos sin O_2, la hemoglobina suelta la mitad de su oxígeno. A diferencia de la hemoglobina, la curva de disociación de la mioglobina tiene una forma hiperbólica. Este patrón más simple de unión, una consecuencia de la estructura más simple de la mioglobina, refleja varios aspectos del papel de esta proteína en el almacenamiento de oxígeno. Dado que su curva de disociación está a la izquierda de la curva de la hemoglobina, la mioglobina suelta el oxígeno sólo cuando la concentración de oxígeno de la célula muscular es muy baja (es decir, durante el ejercicio extenuante). Además, como la mioglobina tiene una mayor afinidad por el oxígeno que la hemoglobina, el oxígeno se mueve desde la sangre al músculo.

La unión de ligandos diferentes al oxígeno afecta las propiedades de unión de la hemoglobina. Por ejemplo, la disociación del oxígeno de la hemoglobina se potencia al disminuir el pH. Por este mecanismo, denominado *efecto Bohr*, el oxígeno se

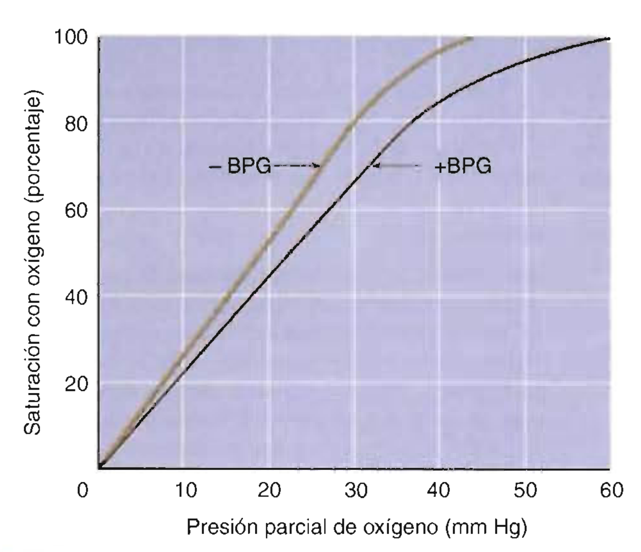


FIGURA 5-35

Efecto del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) sobre la afinidad entre el oxígeno y la hemoglobina. En ausencia de BPG (−BPG) la hemoglobina tiene una afinidad elevada por el O_2; cuando está presente el BPG y se une a la hemoglobina (+BPG) desciende su afinidad por el O_2.

libera a las células, de acuerdo con sus necesidades. Las células con un metabolismo activo, que requieren cantidades importantes de oxígeno para generar energía, producen también cantidades importantes del producto de desecho CO_2. Al difundir el CO_2 a la sangre, éste reacciona con el agua para formar HCO_3 y H^+. (El amortiguador bicarbonato se estudia en la pág. 86.) La consiguiente unión del H^+ a varios grupos ionizables en las moléculas de hemoglobina potencia la disociación del O_2 al convertir la hemoglobina a su estado T. (El ion hidrógeno se une preferentemente a la desoxiHb. Cualquier aumento de la concentración de H^+ estabiliza la conformación desoxi de la proteína y, por lo tanto, acelera su formación.) Cuando se unen un número pequeño de moléculas de CO_2 a los grupos amino terminales de la hemoglobina (formando carbamatos o grupos $-NHCOO^-$) se estabiliza más la forma desoxi (estado T) de la proteína.

El 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) (denominado también glicerato-2,3-bisfosfato) es asimismo un regulador importante de la función de la hemoglobina. Aunque la mayoría de las células sólo contienen cantidades mínimas de BPG, los eritrocitos contienen una cantidad considerable. El BPG deriva del glicerato-1,3-bisfosfato, un intermediario de la degradación de la glucosa. En ausencia de BPG, la hemoglobina tiene una afinidad muy elevada por el oxígeno (Fig. 5.35). Como con el H^+ y el CO_2, la unión del BPG estabiliza la desoxiHb. Una molécula de BPG cargada negativamente se une en una cavidad central dentro de la hemoglobina que está alineada con aminoácidos con carga positiva.

En los pulmones se invierte el proceso. Una concentración elevada de oxígeno impulsa la conversión de la configuración desoxiHb a la oxiHb. El cambio de la estructura tridimensional de la proteína iniciado por la unión de la primera molécula de oxígeno libera el CO_2, el H^+ y el BPG unidos. El H^+ se vuelve a combinar con el HCO_3^- para formar ácido carbónico, que posteriormente se disocia para formar CO_2 y H_2O. Luego, el CO_2 difunde desde la sangre a los alvéolos.

La hemoglobina fetal (HbF) se une al BPG en menor medida que lo hace la HbA. ¿Por qué piensa que la HbF tiene una afinidad mayor por el oxígeno que la hemoglobina materna?	PREGUNTA 5.10
La proteína del músculo mioglobina y la proteína de los eritrocitos hemoglobina son proteínas transportadoras de oxígeno. Describa las características estructurales que permiten a estas moléculas realizar sus funciones propias.	PREGUNTA 5.11

Debido a que la información genética se expresa a través de las proteínas, no es sorprendente que se haya dedicado un tiempo, esfuerzo y dinero considerables a investigar sus propiedades. Desde la determinación de la secuencia de la insulina de bovino por Frederick Sanger en 1953, se han elucidado las estructuras de varios miles de proteínas. Además de proporcionar conocimientos sobre los mecanismos moleculares de varias proteínas, la información sobre la estructura proteica ha conducido a un entendimiento más profundo de las relaciones evolutivas entre las especies. Debido a que algunas enfermedades hereditarias se conoce en la actualidad que están producidas por alteraciones de la secuencia de aminoácidos de proteínas específicas, se han diseñado nuevas pruebas diagnósticas y tratamientos clínicos.

La tecnología que se utiliza para determinar la estructura proteica ha cambiado de forma significativa desde los años 1950. Por ejemplo, la determinación de la estructura de la insulina requirió los esfuerzos de muchos científicos durante 10 años. Actualmente, un equipo de trabajo bien financiado puede determinar la estructura primaria de una proteína recién descubierta en menos de un año. Gran parte del tiempo se dedica a diseñar métodos eficaces para la extracción y purificación de la proteína. Debido a la tecnología automática, la determinación de la secuencia de aminoácidos puede requerir sólo unos pocos días de trabajo.

Una parte sustancial del tiempo del investigador se dedica a la extracción y purificación de las proteínas debido a varios problemas formidables. Los más notables son los siguientes:

1. Las células contienen miles de sustancias diferentes. Con pocas excepciones (p. ej., la hemoglobina de los eritrocitos), la proteína que interesa se encuentra en cantidades muy pequeñas. Separar una proteína específica a partir de un extracto celular en cantidades suficientes con fines investigadores suele representar un desafío a la resistencia e ingenuidad del investigador.
2. Las proteínas suelen ser inestables y pueden requerir una manipulación especial. Por ejemplo, pueden ser especialmente sensibles al pH, la temperatura o la concentración salina, entre otros factores. Los problemas en la manipulación de una proteína pueden ponerse de manifiesto sólo después de haber gastado un tiempo y un esfuerzo considerables. Por ejemplo, la investigación de la nitrogenasa, la enzima que cataliza la reducción del N_2 para formar NH_3, fue obstaculizada durante años hasta que se descubrió que la actividad enzimática se destruía en contacto con el O_2.

Las técnicas para el aislamiento, la purificación y la caracterización inicial de las proteínas que se esbozan posteriormente, explotan las diferencias de carga, peso molecular y afinidades de unión. Muchas de estas técnicas se aplican a la investigación de otras biomoléculas.

Técnicas de aislamiento

El primer paso en cualquier proyecto es poner a punto un análisis de la proteína que interesa. Debido a que la proteína suele extraerse de fuentes que contienen cientos de moléculas semejantes, el análisis debe ser específico. Además, el análisis debe ser fácil de realizar, ya que se va a utilizar con frecuencia durante la investigación. Si la proteína es una enzima, puede medirse la desaparición del sustrato (reactante) o la formación del producto. (Esto suele realizarse utilizando un espectrofotómetro, un aparato que mide diferencias de la absorción de luz de una longitud de onda específica.) Las proteínas no enzimáticas suelen detectarse utilizando anticuerpos. (Los anticuerpos son proteínas que produce el sistema inmunitario de un animal como respuesta a una sustancia ajena.) Con frecuencia los anticuerpos, que sólo se unen a estructuras específicas denominadas **antígenos**, están unidos a «marcas» radiactivas o fluorescentes para potenciar su detección.

La extracción de una proteína comienza con la ruptura y homogeneización de la célula (véase Métodos Bioquímicos 2.1), tras lo cual se realiza una centrifugación diferencial y, si la proteína es un componente de un orgánulo, una centrifugación en gradiente de densidad.

Purificación

Tras obtener la fracción que contiene la proteína para potenciar la purificación, pueden utilizarse varios métodos relativamente crudos. El *salting out* es una técnica en la que para precipitar las proteínas se utilizan concentraciones elevadas de sales como el sulfato amónico [$(NH_4)_2SO_4$]. Debido a que cada proteína tiene un punto de «salting-out» característico, esta técnica elimina muchas impurezas. (Las proteínas que no se quieren y que permanecen en disolución se desechan posteriormente cuando el líquido se decanta.) Cuando las proteínas se encuentran unidas con fuerza a la membrana, suelen ser útiles en su extracción los disolventes orgánicos o los detergentes. La diálisis se utiliza de forma rutinaria para eliminar las impurezas de peso molecular bajo, como las sales, los disolventes y los detergentes.

Al irse purificando la muestra proteica, para conseguir una mayor purificación se emplean métodos más sofisticados. Las técnicas que se emplean con más frecuencia son la cromatografía y la electroforesis.

Cromatografía

La cromatografía que se diseñó originalmente para separar sustancias de peso molecular bajo, como los azúcares y los aminoácidos, se ha convertido en una herramienta inestimable en la purificación de proteínas. Existe una extensa variedad de técnicas cromatográficas, que pueden utilizarse para separar mezclas de proteínas de acuerdo con las propiedades moleculares, como el tamaño, la forma y el peso, o determinadas afinidades de unión. Con frecuencia para obtener una proteína con una pureza demostrada deben emplearse varias técnicas de forma secuencial.

En todos los métodos cromatográficos, la mezcla proteica se disuelve en un líquido conocido como **fase móvil**. Al pasar las moléculas de proteína a través de la **fase estacionaria** (una matriz sólida), se separan unas de otras debido a su distribución diferente entre las dos fases. El movimiento relativo de cada molécula es consecuencia de su capacidad para permanecer asociada con la fase estacionaria mientras que continua fluyendo la fase móvil.

Los tres métodos cromatográficos que se emplean habitualmente en la purificación de proteínas son la cromatografía de filtración en geles, la cromatografía de intercambio iónico y la cromatografía de afinidad. En la **cromatografía de filtración en geles** (Fig. 5C) una columna empaquetada con un polímero gelatinoso separa a las moléculas de acuerdo con su tamaño y forma. Las moléculas que son mayores que los poros del gel quedan excluidas y por lo tanto se mueven rápidamente a través de la columna. Las moléculas que son menores que los poros del gel difunden dentro y fuera de los poros, de forma que se retrasa su movimiento a través de la columna. Cuanto menor es el peso molecular, más lento es el movimiento. Las diferencias de estas velocidades separan la mezcla de proteínas en bandas, que se recogen separadamente.

La **cromatografía de intercambio iónico** separa las proteínas de acuerdo con su carga. Las resinas de intercambio aniónico, que están formadas por materiales con carga positiva, se unen de forma reversible con los grupos con carga negativa de la proteína. De igual forma, las resinas de intercambio catiónico se unen a los grupos con carga positiva. Tras eliminar las proteínas que no se han unido a la resina, se recupera la proteína que interesa por medio de un cambio adecuado del pH del disolvente y/o de la concentración salina. (Un cambio del pH altera la carga neta de la proteína.)

La **cromatografía de afinidad** utiliza las singulares propiedades biológicas de cada proteína; es decir, utiliza una afinidad de unión no covalente especial entre la proteína y una molécula especial (el ligando). El ligando está unido de forma covalente a una matriz insoluble, que se coloca en una columna. Tras pasar a través de la columna las moléculas de proteína que no se unen, la proteína que interesa se separa alterando las condiciones que afectan a la unión (es decir, el pH o la concentración salina).

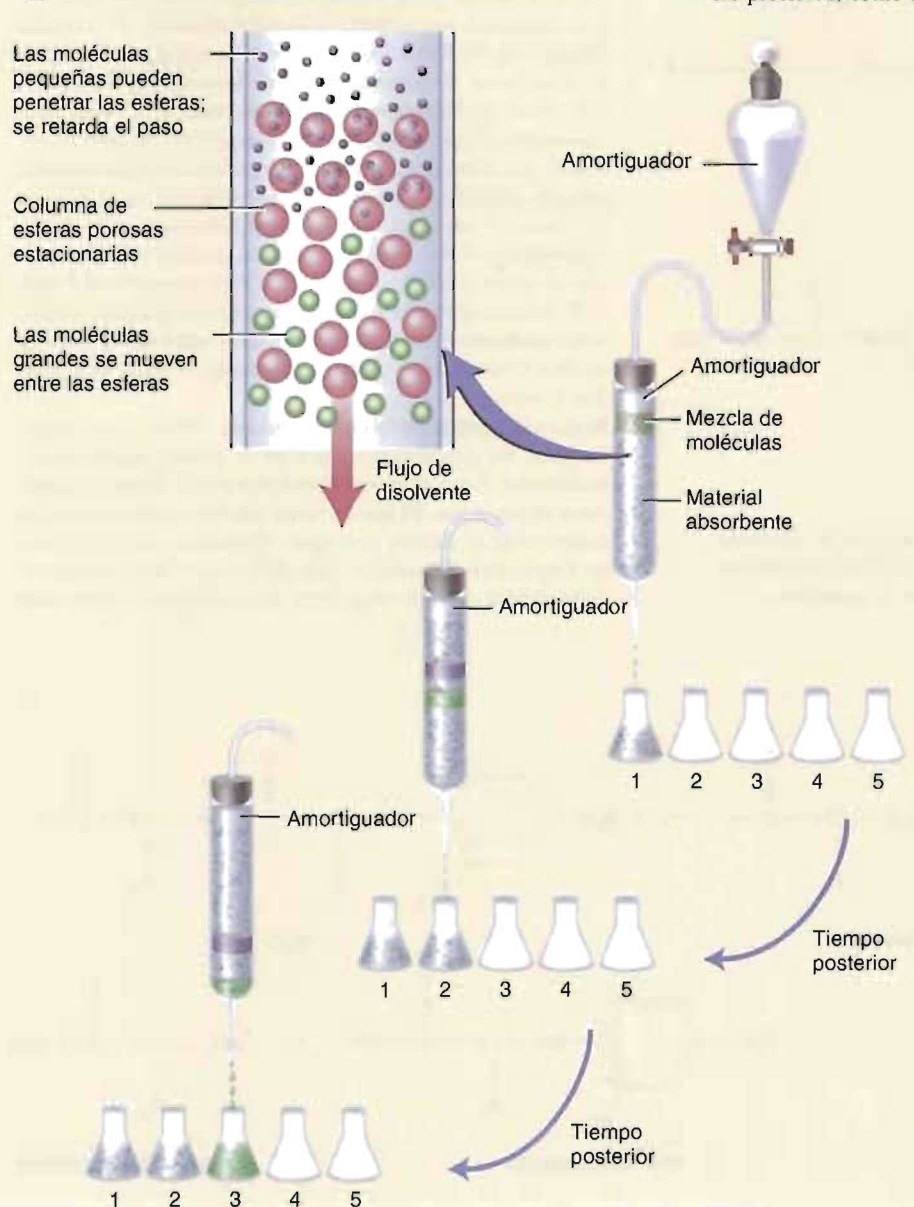
Electroforesis

Las proteínas se mueven en un campo eléctrico como consecuencia de su carga eléctrica. En este proceso, que se denomina **electroforesis**, las moléculas se separan unas de otras debido a las diferencias de su carga neta. Por ejemplo, las moléculas con carga neta positiva migran hacia el electrodo con carga negativa (cátodo), mientras que las moléculas con carga neta positiva se mueven hacia el electrodo con carga positiva (ánodo). Las moléculas sin carga neta no se mueven.

La electroforesis, una de las técnicas que más se utilizan en bioquímica, se realiza casi siempre utilizando geles como los de poliacrilamida o agarosa. El gel, que actúa de forma semejante a como lo hace en la cromatografía de filtración en geles, también actúa para separar a las proteínas de acuerdo con su peso molecular y su forma. Por consiguiente, la electroforesis en gel es muy eficaz para separar mezclas complejas de proteínas u otras moléculas.

Las bandas que se producen en una separación electroforética pueden tratarse de varias formas. Durante la purificación, pueden cortarse las bandas específicas del gel después de observarlas con luz ultravioleta. La rodaja que contiene la proteína se eluye con el amortiguador y se prepara para el paso siguiente. Debido a su elevado poder de resolución, la electroforesis en gel suele utilizarse para valorar la pureza de las muestras de proteínas. La tinción de los geles con un colorante, como el azul brillante de Coomassie, es un método que se emplea mucho para valorar de forma rápida el éxito de un paso de purificación.

Una variante de la electroforesis en gel, que se denomina electroforesis en gel con SDS, se utiliza principalmente para caracterizar a las proteínas, como se señala en la pág. 156.



Caracterización inicial de las proteínas

Debido a que la función de las proteínas está determinada por su estructura física, se han puesto a punto una gran cantidad de técnicas analíticas. Más adelante se describen algunas técnicas bioquímicas y biofísicas básicas.

Composición de aminoácidos

El primer paso en la caracterización de una proteína es la determinación del número de cada clase de residuo de aminoácido presente en la molécula. El proceso para obtener esta información, que se denomina composición de aminoácidos, comienza con la hidrólisis completa de todos los enlaces peptídicos. La hidrólisis se realiza habitualmente con HCl 6N durante 10-100 horas. (Se requieren tiempos de reacción largos debido a las dificultades en la hidrólisis de los aminoácidos alifáticos Leu, Ile y Val.) Tras la hidrólisis se realiza el

FIGURA 5C

Cromatografía de filtración en geles

En la cromatografía de filtración en geles la fase estacionaria es un polímero gelatinoso con tamaños de poro seleccionados por el experimentador para separar moléculas de acuerdo con sus tamaños. La muestra se aplica en la parte superior de la columna y se eluye con el amortiguador (la fase móvil). Al producirse la elución, las moléculas mayores viajan más rápidamente a través del gel que las moléculas menores, cuyo avance se lentifica debido a que pueden penetrar en los poros. Si se recogen las fracciones, las moléculas mayores aparecen en las primeras fracciones, y las últimas contienen las moléculas menores.

información para determinar la secuencia completa del polipéptido. De todas las enzimas que se utilizan habitualmente, la enzima pancreática tripsina es la más fiable. Rompe los enlaces peptídicos en el lado carboxilo de residuos de lisina o arginina. Los fragmentos peptídicos, que se denominan *péptidos trípticos*, poseen residuos carboxilo terminal de lisina o arginina. También suele utilizarse la quimotripsina, otra enzima pancreática. Rompe los enlaces peptídicos en el lado carboxilo de fenilalanina, tirosina o triptófano. El tratamiento del polipéptido con el reactivo bromuro de cianógeno genera también fragmentos peptídicos. El bromuro de cianógeno rompe específicamente los enlaces peptídicos en el lado carboxilo de los residuos de metionina.

4. **Determinación de las secuencias de los fragmentos peptídicos**. Cada fragmento se secuencia mediante ciclos repetidos de un procedimiento denominado *degradación de Edman*. En este método, el isotiocianato de fenilo (PITC), que suele denominarse reactivo de Edman, reacciona con el residuo N-terminal de cada fragmento.

   El tratamiento del producto de esta reacción con ácido rompe el residuo N-terminal en forma de derivado de feniltiohidantoína. El derivado se identifica posteriormente comparándolo con patrones conocidos, utilizando electroforesis o diversos métodos cromatográficos. (La HPLC es la que se utiliza más habitualmente.) Debido al gran número de pasos de la secuenciación de fragmentos peptídicos, la degradación de Edman normalmente se lleva a cabo utilizando una máquina programada por ordenador denominada secuenciador.
5. **Ordenamiento de los fragmentos peptídicos**. La información de la secuencia de aminoácidos obtenida de dos o más conjuntos de fragmentos polipeptídicos se analiza para descubrir los fragmentos solapantes. Estos segmentos hacen posible juntar todas las piezas de la secuencia global.

A continuación se dan varios ejemplos característicos de problemas de determinación de la secuencia primaria, junto con sus soluciones.

Problema 1

Considere el péptido siguiente:

Gly—Ile—Glu—Trp—Thr—Pro—Tyr—Gln—Phe—Arg—Lys

¿Qué aminoácidos y péptidos se producen cuando el péptido anterior se trata con cada uno de los reactivos siguientes?

a. Carboxipeptidasa b. Quimotripsina
c. Tripsina d. FDNB

Solución

a. Debido a que la carboxipeptidasa rompe en el extremo carboxilo de los péptidos, los productos son:

   Gly—Ile—Glu—Trp—Thr—Pro—Tyr—Gln—Phe—Arg y Lys
b. Debido a que la quimotripsina rompe los enlaces peptídicos en los que los aminoácidos aromáticos (es decir, Phe, Tyr y Trp) contribuyen con un grupo carboxilo, los productos son:

   Gl—Ile—Glu—Trp, Thr—Pro—Tyr, Gln—Phe, y Arg—Lys
c. La tripsina rompe en el extremo carboxilo de lisina y arginina. Los productos son:

   Gly—Ile—Glu—Trp—Thr—Pro—Tyr—Gln—Phe—Arg, y Lys
d. El FDNB marca el aminoácido amino terminal. El producto es

   DNP—Gly—Ile—Glu—Trp—Thr—Pro—Tyr—Gln—Phe—Arg—Lys

   La hidrólisis rompe todos los enlaces peptídicos. DNP-Gly puede identificarse posteriormente mediante un método cromatográfico.

Problema 2

A partir de los resultados analíticos siguientes, deduzca la estructura de un péptido que contiene 14 aminoácidos aislado a partir de la orquídea Alantian.

La hidrólisis completa produce los siguientes aminoácidos: Gly (3), Leu (3), Glu (2), Pro, Met, Lys (2), Thr, Phe. El tratamiento con la

Degradación de Edman

Derivado de feniltiohidantoína del aminoácido N-terminal

Péptido menos el residuo N-terminal

carboxipeptidasa libera glicina. El tratamiento con FDNB libera DNP-glicina. El tratamiento con una enzima proteolítica inespecífica produce los siguientes fragmentos:

Gly—Leu—Glu, Gly—Pro—Met—Lys,
Lys—Glu, Thr—Phe—Leu—Leu—Gly,
Lys—Glu—Thr—Phe—Leu,
Leu—Leu—Gly, Glu—Thr—Phe,
Glu—Gly—Pro, Pro—Met—Lys—Lys,
y Gly—Leu

Solución

El análisis de aminoácidos proporciona información relativa a la clase y el número de aminoácidos del péptido. Los resultados de la carboxipeptidasa y del FDNB muestran que los aminoácidos carboxilo y amino terminal son, ambos, glicina. Finalmente, solapando los fragmentos, puede determinarse la secuencia de aminoácidos. Recuerde empezar con un fragmento que termine con el residuo N-terminal, en este caso, glicina.

Gly—Leu—Glu, Gly—Pro—Met—Lys, Lys—Glu,
Thr—Phe—Leu—Leu—Gly, Gly—Leu,
Gly—Gly—Pro, Pro—Met—Lys—Lys,
Lys—Glu—Thr—Phe—Leu, Leu—Leu—Gly

La estructura global es entonces

Gly—Leu—Glu—Gly—Pro—Met—Lys—
Lys—Glu—Thr—Phe—Leu—Leu—Gly

Revise cada pieza de los datos analíticos para asegurar que apoya la secuencia de aminoácidos final.

Determinación del peso molecular

Se dispone de varios métodos para determinar el peso molecular de las proteínas. La cromatografía en columna de filtración en geles, la SDS-PAGE y la ultracentrifugación son las que se utilizan más habitualmente.

Debido a que los geles actúan como tamizado molecular, existe una correlación directa entre el volumen de elución (V_e, el volumen de disolvente que se requiere para eluir la proteína de la columna desde su primer contacto con el gel) y el peso molecular. Cuando se utiliza la cromatografía de filtración en geles para determinar el peso molecular, debe calibrarse de forma cuidadosa el gel de la columna, lo cual se realiza mediante la medida cuidadosa de varias magnitudes. El volumen total de la columna V_t es igual a la suma del volumen ocupado por el gel V_g y el volumen vacío V_o, que es el volumen que ocupan las moléculas de disolvente:

$$V_t = V_g + V_o$$

El peso molecular de la proteína se determina comparando su volumen de elución relativo ($V_e - V_o/V_g$) con los de varias moléculas estándar (Fig. 5D). V_e es el volumen de disolvente que se requiere para que eluya el disolvente de la columna.

Una variante de la electroforesis, muy utilizada para determinar el peso molecular, emplea el detergente con carga negativa dodecil sulfato sódico (SDS) (Fig. 5E). En la **electrofresis en gel de poliacrilamida con SDS** (SDS-PAGE) el detergente se une a las regiones hidrófobas de las moléculas proteicas. Como resultado de la unión de las moléculas de SDS, las proteínas se desnaturalizan y adquieren formas de varilla. (Este efecto se consigue también añadiendo mercaptoetanol, que rompe los puentes disulfuro.) Debido a que la mayoría de las moléculas se unen al SDS con una relación aproximadamente proporcional a sus pesos moleculares, durante la electroforesis, las proteínas tratadas con SDS migran hacia el ánodo (polo +) sólo en relación con su peso molecular debido a los efectos de filtración en gel.

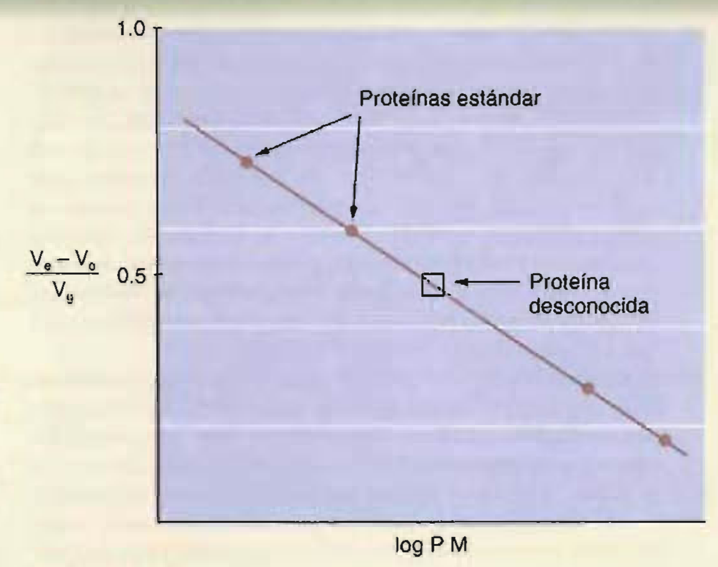


FIGURA 5D

Determinación del peso molecular utilizando cromatografía de filtración en geles.

Se representa el peso molecular de estándares conocidos frente a sus volúmenes de elución. Esta curva de calibración se utiliza luego para determinar el peso molecular de la proteína desconocida.

Las estimaciones del peso molecular pueden también obtenerse utilizando la ultracentrifugación. Recuerde que la ultracentrifugación separa los componentes de acuerdo con su tamaño, área superficial y densidad relativa. Utilizando fuerzas centrífugas elevadas pueden determinarse las masas moleculares de las macromoléculas como las proteínas. Utilizando una ultracentrífuga analítica, se mide ópticamente la velocidad a la que sedimentan estas moléculas debido a la influencia de la fuerza centrífuga.

Cristalografía de rayos X

La mayor parte de la información estructural tridimensional sobre las proteínas se ha obtenido mediante cristalografía de rayos X. Debido a que las distancias de enlace de las proteínas son aproximadamente de 15 nm, la radiación electromagnética que se utiliza para resolver la estructura proteica debe tener una longitud de onda corta. La luz visible, cuyas longitudes de onda, λ, son 400-700 nm, claramente no tiene poder de resolución suficiente para las biomoléculas. Sin embargo, los rayos X tienen longitudes de onda muy cortas (0.07-0.25 nm).

En la cristalografía de rayos X se exponen especímenes cristalinos muy ordenados a un haz de rayos X (Fig. 5F). Al golpear los rayos X el cristal, son dispersados por los átomos del cristal. El patrón de difracción a que da lugar se registra sobre una placa fotográfica. Los patrones de difracción se utilizan para construir un mapa de densidad electrónica. Debido a que no hay lentes objetivo para recombinar los rayos X difractados, la imagen tridimensional se reconstruye matemáticamente. Los programas de ordenador realizan ahora estos cálculos extremadamente complejos y laboriosos.

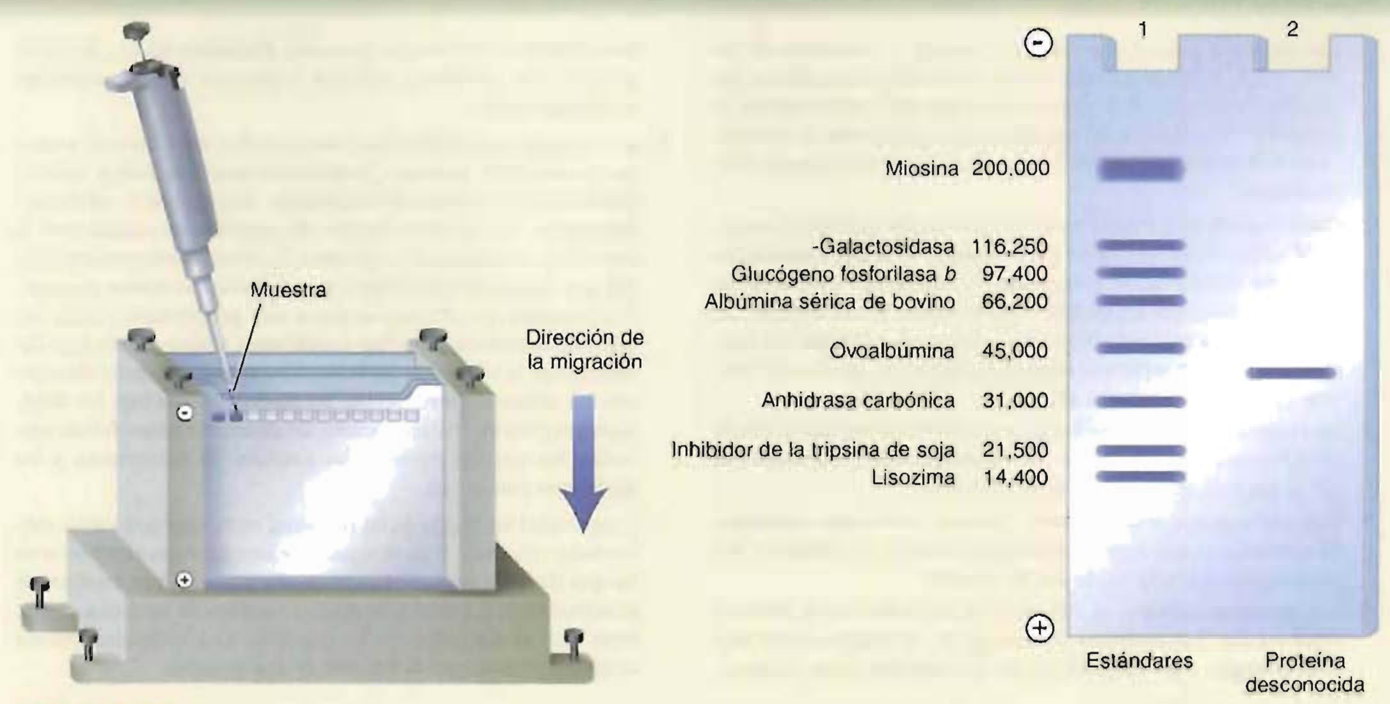


FIGURA 5E

Electroforesis en gel.

(a) Aparato para geles. Las muestras se cargan en los pocillos. Tras aplicar el campo eléctrico, las proteínas se mueven en el gel. (b) Las moléculas se separan y se mueven en el gel en función de su peso molecular y su forma.

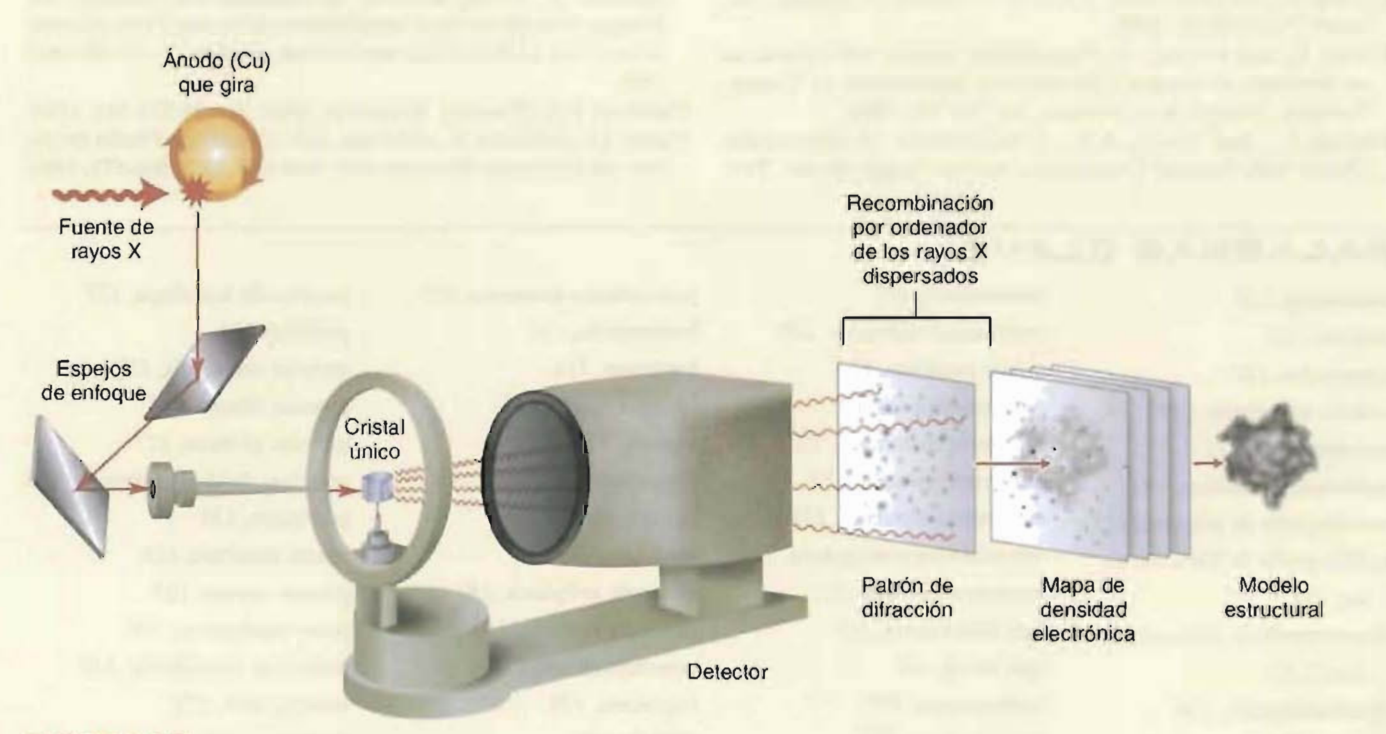


FIGURA 5F

Diagrama esquemático de la cristalografía de rayos X.

Los rayos X son útiles en el análisis de las biomoléculas debido a que el intervalo de sus longitudes de onda es semejante a la magnitud de los enlaces químicos. Por consiguiente, el poder de resolución de la cristalografía de rayos X es equivalente a las distancias interatómicas.

RESUMEN

1. Las proteínas poseen una enorme cantidad de funciones en los seres vivos. Además de servir como materiales estructurales, las proteínas participan en la regulación metabólica, el transporte, la defensa y la catálisis. Los polipéptidos son polímeros de aminoácidos. Las proteínas pueden constar de una o varias cadenas polipeptídicas.
2. Cada aminoácido contiene un átomo de carbono central (el carbono α) al que están unidos un grupo amino, un grupo carboxilato, un átomo de hidrógeno y un grupo R. Además de constituir las proteínas, los aminoácidos poseen otras funciones biológicas. De acuerdo con su capacidad para interaccionar con el agua, los aminoácidos pueden separarse en cuatro clases: (1) apolares y neutros, (2) polares y neutros, (3) ácidos y (4) básicos.
3. La titulación de los aminoácidos y los péptidos explica el efecto del pH sobre sus estructuras. Se denomina punto isoeléctrico al pH al que una molécula no tiene carga neta.
4. Los aminoácidos experimentan diversas reacciones químicas. Dos reacciones son especialmente importantes: la formación del enlace peptídico y la oxidación de cisteína.
5. Las proteínas también se clasifican de acuerdo con su forma y composición. Las proteínas fibrosas (p. ej., el colágeno) son moléculas largas, con forma de varilla, que son insolubles en agua y físicamente correosas. Las proteínas globulares (p. ej., la hemoglobina) son moléculas esféricas compactas que normalmente son hidrosolubles.
6. Los bioquímicos diferencian cuatro niveles de estructura proteica. La estructura primaria, la secuencia de aminoácidos, está especificada por la información genética. Al plegarse la cadena polipeptídica, los patrones locales de plegamiento constituyen la estructura secundaria de la proteína. La forma tridimensional global que asume un polipéptido se denomina estructura terciaria. Las proteínas que constan de dos o más polipéptidos poseen estructura cuaternaria. Muchas condiciones físicas y químicas desorganizan la estructura proteica. Los agentes desnaturalizantes son los ácidos o bases fuertes, los agentes reductores, los disolventes orgánicos, los detergentes, las concentraciones salinas elevadas, los metales pesados, los cambios de temperatura y las agresiones mecánicas.
7. La actividad biológica de las proteínas complejas con varias subunidades con frecuencia se regula por interacciones alostéricas en las que ligandos pequeños se unen a la proteína. Los cambios de la actividad de la proteína se deben a cambios de las interacciones entre las subunidades de la proteína. Los efectores pueden aumentar o disminuir la función de una proteína.

LECTURAS RECOMENDADAS

Branden, C., and Tooze, J., *Introduction to Protein Structure*, 2nd ed., Garland, New York, 1999.

Doolittle, R.F., Proteins, *Sci. Amer.* 253(10):88-96, 1985.

Karplus, M., and McCannon, J.A., The Dynamics of Proteins, *Sci. Amer.* 254(4):42-51, 1986.

Kosaka, H., and Seiyama, A., Physiological Role of Nitric Oxide as an Enhancer of Oxygen Transfer from Erythrocytes to Tissues, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 218:749-752, 1996.

Pauling, L., and Corey, R.B., Configurations of Polypeptide Chains with Favored Orientations Around Single Bonds: Two New Pleated Sheets, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 37:729-740, 1953.

Petruzzelli, R., Aureli, G., Lania, A., Galtieri, A., Desideri, A., and Giardina, B., Diving Behavior and Haemoglobin Function: The Primary Structure of the α- and β-Chains of the Sea Turtle (*Caretta caretta*) and Its Functional Implications, *Biochem. J.* 316:959-965, 1996.

Shadwick, R.E., Elasticity in Arteries, *Amer. Sci.* 86:535-541, 1998.

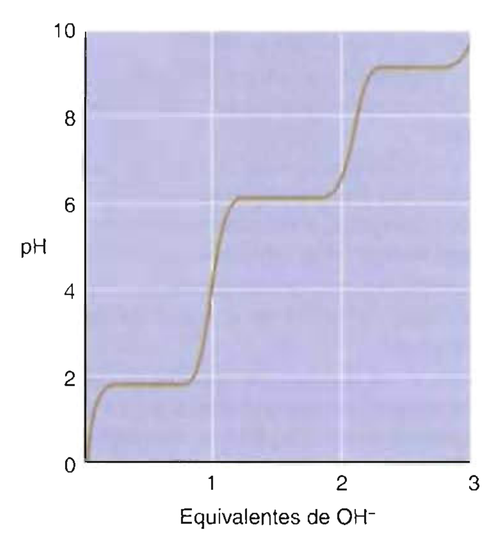
Thorne, J.L., Goldman, N., and Jones, D.T., Combining Protein Evolution and Secundary Structure, *Mol. Biol. Eol.* 13(5):666-673, 1996.

PALABRAS CLAVE

alosterismo, *136*
antígeno, *152*
apoproteína, *127*
carbono asimétrico, *115*
carbono quiral, *115*
condensación aldólica, *144*
cromatografía de afinidad, *153*
cromatografía de filtración en gel, *152*
cromatografía de intercambio iónico, *152*
desnaturalización, *138*
efector, *136*
electroforesis, *153*
electroforesis en gel de poliacrilamida, *156*
enantiómero, *115*
enfermedad molecular, *129*
enlace peptídico, *120*
estereoisómero, *116*
estructura cuaternaria, *127*
estructura primaria, *127*
estructura secundaria, *127*
estructura supersecundaria, *131*
estructura terciaria, *127*
fase estacionaria, *152*
fase móvil, *152*
fosfoproteína, *127*
glucoproteína, *127*
grupo prostético, *127*
hemoproteína, *127*
hidrocarburo alifático, *112*
hidrocarburo aromático, *112*
holoproteína, *127*
hormonas, *114*
isómero óptico, *115*
ligando, *135*
lipoproteína, *127*
metaloproteína, *127*
modulador, *136*
molécula anfipática, *139*
molécula anfótera, *110*
neurotransmisor, *114*
oligómero, *136*
péptido, *110*
péptido opiáceo, *125*
plegamiento proteico, *133*
polipéptido, *110*
polipéptido homólogo, *127*
proteína, *110*
proteína conjugada, *127*
proteína fibrosa, *126*
proteína globular, *127*
proteínas de choque térmico, *126*
protómero, *136*
puente disulfuro, *123*
puentes salinos, *133*
punto isoeléctrico, *116*
residuo de aminoácido, *110*
«salting out», *152*
subunidad, *135*
transición alostérica, *136*
unión cooperativa, *149*
zwitterion, *110*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Diferencie entre proteínas, péptidos y polipéptidos.
2. Indique cuáles de los siguientes aminoácidos son polares, apolares, ácidos y básicos:
   a. glicina
   b. tirosina
   c. ácido glutámico
   d. histidina
   e. prolina
   f. lisina
   g. cisteína
   h. asparagina
   i. valina
   j. leucina
3. La arginina tiene los valores de pK_a siguientes:
   $pK_1 = 2.17$, $pK_2 = 9.04$, $pK_R = 12.48$
   ¿Cuál es la estructura y la carga neta de la arginina a los valores de pH siguientes? 1, 4, 7, 10, 12.
4. A continuación se presenta la curva de titulación de la histidina:



   a. ¿Qué especies se encuentran presentes en cada meseta?
   b. Utilizando la curva de titulación, determine el pK_a de cada ionización de la histidina.
   c. ¿Cuál es el punto isoeléctrico de la histidina?
5. Considere la molécula siguiente:

$$H_3\overset{+}{N}-\underset{\underset{SH}{|}}{\underset{CH_2}{\underset{|}{CH}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-\underset{\underset{C_6H_4-OH}{|}}{\underset{CH_2}{\underset{|}{CH}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^-$$

   a. Nómbrela.
   b. Utilizando los símbolos de tres letras para los aminoácidos, ¿cómo podría representarse esta molécula?
6. La rotación alrededor del enlace peptídico en la glicilglicina está impedida. Dibuje las formas de resonancia del enlace peptídico y explique por qué.
7. Dé una relación de seis funciones de las proteínas en el organismo.
8. Diferencie los términos en cada par siguiente:
   a. proteínas fibrosas y globulares
   b. proteínas simples y conjugadas
   c. apoproteína y holoproteína.
9. Defina los términos siguientes:
   a. carbono α
   b. punto isoeléctrico
   c. enlace peptídico
   d. aminoácido hidrófobo.
10. Indique el nivel o niveles de la estructura proteica a los que contribuyen cada uno de lo siguientes:
    a. secuencia de aminoácidos
    b. lámina plegada β
    c. enlace de hidrógeno
    d. enlace disulfuro.
11. ¿Qué tipo de estructura secundaria es más probable en las siguientes secuencias de aminoácidos?
    a. poliprolina
    b. poliglicina
    c. Ala—Val—Ala—Val—Ala—Val—
    d. Gly—Ser—Gly—Ala—Gly—Ala
12. Relacione tres factores que no favorecen la formación de hélice α.
13. La desnaturalización es la pérdida de la función de la proteína por un cambio estructural o una reacción química. ¿A qué nivel de la estructura proteica o mediante qué reacción química actúan cada uno de los siguientes agentes desnaturalizantes?
    a. calor
    b. ácido fuerte
    c. solución salina saturada
    d. disolventes orgánicos (p. ej., alcohol o cloroformo).
14. Un polipéptido posee un valor elevado de pI. Sugiera los aminoácidos que lo forman.
15. Bosqueje los pasos para aislar una proteína característica. ¿Qué se consigue en cada paso?
16. Bosqueje los pasos para purificar una proteína. ¿Qué criterios se utilizan para evaluar la pureza?
17. Dé una relación de los tipos de cromatografía que se utilizan para purificar las proteínas. Describa como opera cada método de separación.
18. Cuando se secuencia una proteína utilizando carboxipeptidasa, primero se rompe la proteína en fragmentos más pequeños, que luego se separan. Posteriormente, se secuencia individualmente cada fragmento. Si esta fragmentación inicial no se lleva a cabo, los residuos de aminoácido podrían reconstruirse en el medio de reacción. ¿Cómo inhibirían estos residuos la secuenciación?.
19. En un análisis de aminoácidos se rompe una proteína grande en sus fragmentos solapantes utilizando enzimas específicas. ¿Por qué deben ser solapantes las secuencias?
20. La hidrólisis de la β-endorfina (un péptido que contiene 31 residuos de aminoácido) produce los aminoácidos siguientes:

    Tyr(1), Gly(3), Phe(2), Met, Thr(3), Ser(2), Lys(5), Gln(2), Pro, Leu(2), Val(2), Asn(2), Ala(2), Ile, His y Glu

    El tratamiento con carboxipeptidasa libera Gln. El tratamiento con FDNB libera DNP-Tyr. El tratamiento con tripsina produce los péptidos siguientes:

Lys, Gly—Gln, Asn—Ala—Ile—Val—Lys,
Tyr—Gly—Gly—Phe—Met—Thr—Ser—Glu—Lys,
Asn—Ala—His—Lys, Ser—Gln—Thr—Pro—Leu—
Val—Thr—Leu—Phe—Lys

El tratamiento con quimotripsina produce los siguientes péptidos:

Lys—Asn—Ala—Ile—Val—Lys—Asn—Ala—His—
Lys—Lys—Gly—Gln
Tyr—Gly—Gly—Phe
Met—Thr—ser—Glu—Lys—Ser—Gln—Thr—Pro—
Leu—Val—Thr—Leu—Phe

¿Cuál es la secuencia primaria de la β-endorfina?

21. Considere el tripéptido siguiente:

Gly—Ala—Val

a. ¿Cuál es el punto isoeléctrico aproximado?
b. En qué dirección se moverá el tripéptido cuando se coloque en un campo eléctrico a los valores de pH siguientes? 1, 5, 10, 12.

22. La secuencia de aminoácidos de la bradiquinina, un péptido liberado por determinados organismos en respuesta a las picaduras de avispa, es la siguiente:

Arg—Pro—Pro—Gly—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg

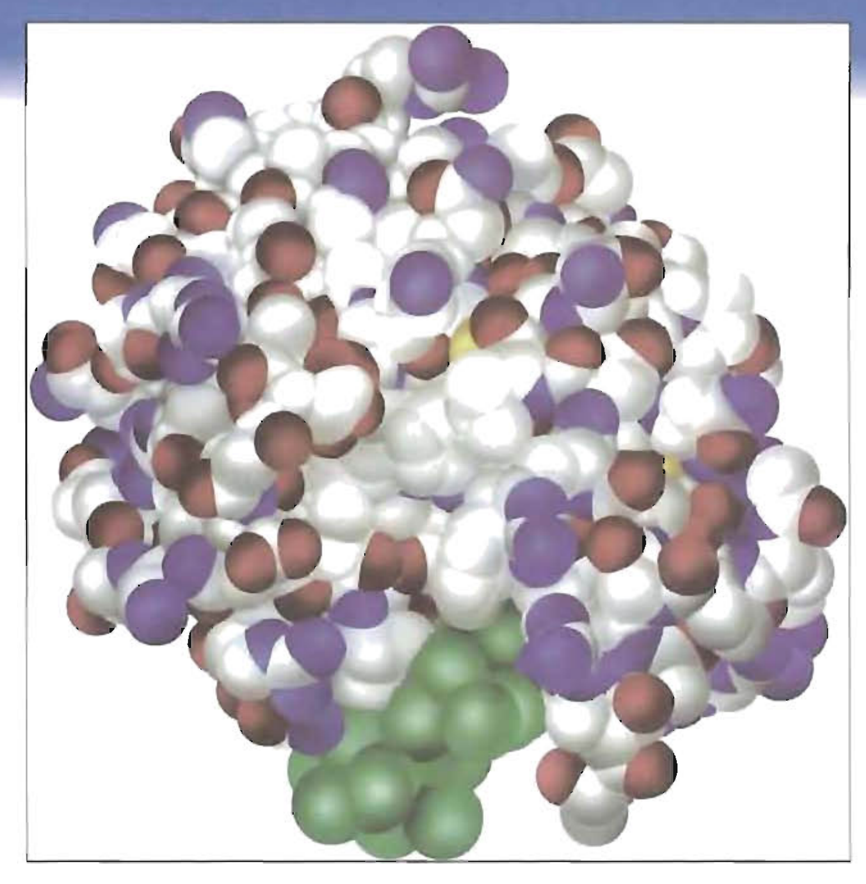
¿Qué aminoácidos o péptidos se producen cuando se trata a la bradiquinina con los siguientes reactivos?
a. carboxipeptidasa
b. quimotripsina
c. tripsina
d. FDNB.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Los residuos como valina, leucina, isoleucina, metionina y fenilalanina suelen encontrarse en el interior de las proteínas, mientras que arginina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico suelen encontrarse en la superficie de las proteínas. Sugiera una razón para esta observación. ¿Dónde esperaría encontrar glutamina, glicina y alanina?
2. Las proteínas que sintetizan los seres vivos adoptan una conformación con actividad biológica, pero cuando estas proteínas se preparan en el laboratorio, normalmente no suelen adoptar espontáneamente sus conformaciones activas. ¿Puede sugerir por qué?
3. El lugar activo de una enzima contiene secuencias que están conservadas debido a que participan en la actividad catalítica de la proteína. Sin embargo, el grueso de una enzima no es parte del lugar activo. Debido a que se requiere una cantidad sustancial de energía para ensamblar las enzimas, ¿por qué son normalmente tan grandes?
4. Las proteínas estructurales pueden incorporar cantidades grandes de agua inmovilizada como parte de su estructura. ¿Puede sugerir como «congelan» el agua las moléculas proteicas en un lugar y la hacen parte de la estructura proteica?
5. El enlace peptídico es un enlace más fuerte que el de los ésteres. ¿Qué característica estructural del enlace peptídico le da una mayor fuerza?
6. Debido a su tendencia a evitar al agua, los aminoácidos apolares desempeñan una función importante en la formación y mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas. ¿Puede sugerir como realizan estas moléculas esta hazaña?
7. La quimotripsina es una enzima que rompe a otras enzimas durante la secuenciación. ¿Por qué no se atacan las moléculas de quimotripsina entre sí?
8. La mayoría de los aminoácidos aparecen de color morado azulado cuando se tratan con el reactivo ninhidrina. La prolina y la hidroxiprolina aparecen en amarillo. Sugiera una razón para esta diferencia.

CAPÍTULO SEIS

Enzimas



Modelo de relleno espacial de la lisozima. La lisozima, una enzima que se encuentra en las lágrimas y la saliva, destruye determinadas bacterias hidrolizando los polisacáridos de la pared bacteriana. En este modelo de relleno espacial se muestra al polipéptido con un segmento de polisacárido unido (verde).

SUMARIO

La vida es inconcebible sin las enzimas. La mayoría de las miles de reacciones bioquímicas que mantienen los procesos vivos se producirían a velocidades imperceptibles sin las enzimas. Las enzimas son catalizadores enormemente potentes que exhiben una especificidad elevada. Sus actividades catalíticas pueden regularse de forma precisa.

Una de las funciones más importantes de las proteínas es su papel como catalizadores. (Hasta hace poco tiempo se consideraba que todas las enzimas eran proteínas. Sin embargo, se ha comprobado la existencia de varias moléculas de RNA catalíticas. Véase el Capítulo 18.) Recuerde que los procesos vivos se componen casi en su totalidad de reacciones bioquímicas. Sin catalizadores, estas reacciones no serían lo suficientemente rápidas para mantener la vida.

Para que tengan lugar a una velocidad viable, la mayoría de las reacciones químicas requiere un aporte inicial de energía. En el laboratorio esta energía normalmente se aporta en forma de calor. A temperaturas por encima del cero absoluto (−273.1 °C), todas las moléculas poseen energía vibratoria, que aumenta al calentar las moléculas. Considere la reacción siguiente:

$$A + B \rightarrow C$$

Al aumentar la temperatura, las moléculas que vibran (A y B) tienen mayor probabilidad de chocar. Una reacción química tiene lugar cuando las moléculas que chocan poseen una cantidad mínima de energía denominada **energía de activación** (E_a) o, con mayor frecuencia en bioquímica, energía libre de activación ($\Delta G^{\ddagger}$). No todas las colisiones producen reacciones químicas, debido a que sólo una fracción de las moléculas posee la energía suficiente o la orientación correcta para reaccionar (es decir, para romper los enlaces o para reagrupar los átomos en las moléculas de producto). Otra forma de aumentar la probabilidad de colisiones, incrementando de esta manera la formación de producto, es aumentar la concentración de los reactantes.

Sin embargo, en los seres vivos las temperaturas elevadas pueden dañar las delicadas estructuras biológicas, y las concentraciones de los reactantes son habitualmente bastante bajas. Los seres vivos evitan estos problemas utilizando las enzimas.

Las enzimas poseen varias propiedades notables. En primer lugar, las velocidades de las reacciones que catalizan las enzimas suelen ser extraordinariamente elevadas. (Son frecuentes los aumentos de la velocidad de 10^6 veces o mayores.) En segundo lugar, con un marcado contraste con los catalizadores inorgánicos, las enzimas son muy específicas para las reacciones que catalizan. Es poco habitual que se formen productos secundarios. Finalmente, debido a sus estructuras complejas, las enzimas pueden regularse. Esto es especialmente importante en los seres vivos, que deben conservar la energía y las materias primas.

Debido a que las enzimas participan en tantos aspectos de los procesos vivos, cualquier entendimiento de la bioquímica depende de la apreciación de estos catalizadores notables. Este capítulo examina su estructura y función.

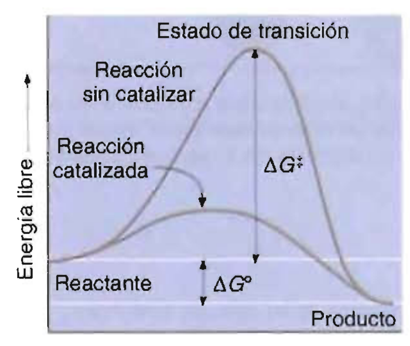


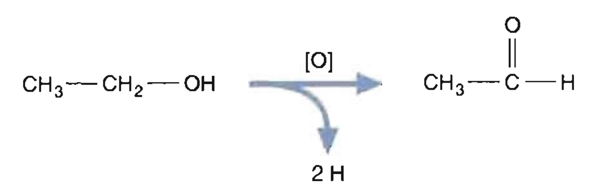
FIGURA 6-1

Un catalizador reduce la energía de activación de una reacción.

Un catalizador altera la energía libre de activación $\Delta G^{\ddagger}$ y no la energía libre estándar ΔG° de la reacción.

6.1. PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS

¿Cómo actúan las enzimas? La respuesta a esta pregunta requiere una revisión del papel de los catalizadores. Por definición, un catalizador es una sustancia que aumenta la velocidad de una reacción química y que no se altera de forma permanente por la reacción. Los catalizadores realizan esta hazaña debido a que disminuyen la energía de activación que se requiere para una reacción química. En otras palabras, los catalizadores proporcionan una ruta de reacción alternativa que requiere menos energía (Fig. 6.1). En el ápice de ambas rutas de reacción de la Figura 6.1 se produce un **estado de transición**. La energía libre de activación $\Delta G^{\ddagger}$ se define como la cantidad de energía que se requiere para convertir 1 mol de moléculas de **sustrato** (reactante) desde el estado basal (la forma estable de baja energía de la molécula) al estado de transición. En la reacción de oxidación del etanol para formar acetaldehído



este estado de transición se asemejaría a

$$CH_3-\overset{H}{\underset{H}{C}}-O^-$$

Aun con los catalizadores inorgánicos, la mayoría de las reacciones de laboratorio requiere un aporte de energía, normalmente en forma de calor. Además, la mayoría de estos catalizadores son inespecíficos; es decir, aceleran una amplia variedad de reacciones. Las enzimas realizan su trabajo a temperaturas moderadas y son bastante específicas en las reacciones que catalizan cada una de ellas. La diferencia entre los catalizadores inorgánicos y las enzimas está relacionada directamente con sus estructuras. A diferencia de los catalizadores inorgánicos, cada clase de molécula enzimática contiene una superficie de unión de forma enrevesada y única denominada **lugar activo**. Los sustratos se unen al lugar activo de las enzimas, que habitualmente es una pequeña hendidura o grieta en una molécula proteica grande. Sin embargo, el lugar activo no es sólo el lugar de unión. Varias de las cadenas laterales de los aminoácidos que se encuentran en el lugar activo participan activamente en el proceso catalítico.

La información dentro del lugar activo de una enzima (su forma y distribución de carga) restringe los movimientos y las conformaciones permitidas del sustrato, haciendo que éste se asemeje más al estado de transición. En otras palabras, la información sobre la estructura de la enzima se utiliza para orientar de forma óptima al sustrato. Como resultado de esta transferencia de información, la energía del complejo enzima-sustrato se hace más cercana a la de $\Delta G^{\ddagger}$, lo cual significa que se reduce la energía necesaria para que se produzca la reacción hasta el producto. Como consecuencia de esto hay un incremento de la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas. Otros factores, como los efectos electrostáticos, la catálisis acidobásica general y la catálisis covalente (que se considera en las págs. 177-180), contribuyen también a incrementar las velocidades de las reacciones catalizadas por las enzimas sobre las reacciones que no están catalizadas por enzimas.

Las enzimas, como todos los catalizadores, no alteran el equilibrio de la reacción, sino que aumentan la velocidad hacia el equilibrio. Considere la siguiente reacción reversible:

$$A \rightleftharpoons B$$

Sin un catalizador, el reactante A se convierte en el producto B a una determinada velocidad. Debido a que es una reacción reversible, B también se convierte en A. La expresión de la velocidad para la dirección directa es $k_D[A]^n$, y la de la reacción inversa es $k_I[B]^m$. Los superíndices n y m representan el orden de la reacción, que refleja el mecanismo por el que A se convierte en B, y viceversa. Un orden de reacción de 2 para la conversión de A en B indica que es un proceso bimolecular y las moléculas de A deben reaccionar para que se produzca la reacción (Sección 6.3). En el equilibrio, las velocidades de los procesos directo e inverso son iguales:

$$k_D[A]^n = k_I[B]^m \qquad (1)$$

que se reagrupa a

$$\frac{k_D}{k_I} = \frac{[B]^m}{[A]^n} \qquad (2)$$

El cociente de las constantes directa e inversa es la constante de equilibrio:

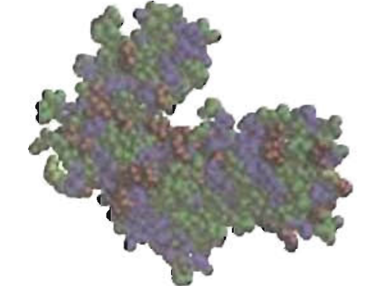
$$K_{eq} = \frac{[B]^m}{[A]^n} \qquad (3)$$

Por ejemplo, en la ecuación (3), $m = n = 1$ y $k_D = 1 \times 10^{-3}\ s^{-1}$ y $k_I = 1 \times 10^{-6}\ s^{-1}$, entonces

$$K_{eq} = \frac{10^{-3}}{10^{-6}}$$

En el equilibrio, por lo tanto, el cociente entre los productos y los reactantes es de 1000 a 1.

En una reacción catalizada, tanto la velocidad directa como la velocidad inversa se incrementan, pero la K_{eq} (en este caso 1000) permanece inalterada. Si el catalizador incrementa tanto la velocidad directa como la inversa por un factor de 100, entonces la velocidad directa se hace 100 000, y la inversa se hace 100. Debido al impresionante aumento de la velocidad de la reacción directa que hace posible el catalizador, el equilibrio se alcanza en segundos o minutos en lugar de horas o días.



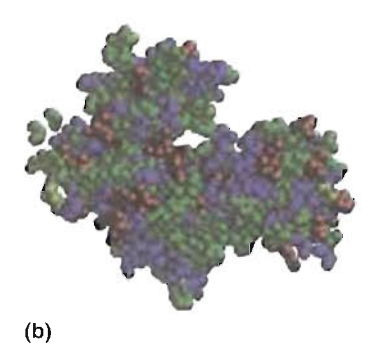


FIGURA 6-2

Modelo del ajuste inducido.

La unión del sustrato produce un cambio conformacional de la enzima. Conformaciones de la enzima hexoquinasa (un único polipéptido con dos dominios) (a) antes de la unión de la glucosa y (b) tras la unión de la glucosa (no se muestra la molécula de glucosa). Los dominios se mueven uno con relación al otro para acercarse alrededor de la molécula de glucosa.

El *modelo llave-cerradura* de la acción enzimática, expuesto por Emil Fischer en 1890, explica en parte la especificidad enzimática. Cada enzima se une a un único tipo de sustrato debido a que el lugar activo y el sustrato poseen estructuras complementarias. La forma global del sustrato y su distribución de carga le permiten entrar e interaccionar con el lugar activo de la enzima. En una variante moderna del modelo llave-cerradura debida a Daniel Koshland, denominada *modelo del ajuste inducido*, se tiene en cuenta la estructura flexible de las proteínas (Fig. 6.2). En este modelo, el sustrato no se ajusta con precisión a un lugar activo rígido. En su lugar, las interacciones no covalentes entre la enzima y el sustrato modifican la estructura tridimensional del lugar activo, conformando la forma del lugar activo con la forma del sustrato en su conformación del estado de transición.

Aunque la actividad catalítica de algunas enzimas sólo depende de las interacciones entre los aminoácidos del lugar activo y el sustrato, otras enzimas requieren para sus actividades componentes no proteicos. Los **cofactores** enzimáticos pueden ser iones, como el Mg^{2+} o el Zn^{2+}, o moléculas orgánicas complejas, denominadas **coenzimas**. El componente proteico de una enzima que carece de un cofactor esencial se denomina **apoenzima**. Las enzimas intactas con sus cofactores unidos se denominan **holoenzimas**.



CONCEPTOS CLAVE 6.1

Las enzimas son catalizadores. Éstos modifican la velocidad de una reacción debido a que proporcionan una ruta de reacción alternativa que requiere menos energía que la reacción sin catalizar. La mayoría de las enzimas son proteínas.

Las actividades de algunas enzimas pueden regularse para mantener un entorno intracelular estable. Por ejemplo, los ajustes de las velocidades de las reacciones catalizadas por las enzimas permiten a las células responder eficazmente a las variaciones de las concentraciones de los nutrientes. Los organismos pueden controlar directamente las actividades enzimáticas, principalmente a través de la unión de activadores o inhibidores, la modificación covalente de las moléculas enzimáticas, o indirectamente, regulando la síntesis de la enzima. (El control de la síntesis de las enzimas requiere la regulación de los genes, un tema que se considera en los Capítulos 18 y 19.)

PREGUNTA 6.1

Las hexoquinasas son una clase de enzimas que catalizan la fosforilación de las hexosas (azúcares con seis carbonos) dependiente del ATP. Las hexoquinasas sólo se unen a azúcares D-hexosa y no a sus contrarios L-. En términos generales, describa las características de la estructura de una enzima que hacen posible esta discriminación.

6.2. CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS

En la primera época de la bioquímica, las enzimas se denominaban según el capricho de sus descubridores. Con frecuencia, los nombres de las enzimas no proporcionaban indicaciones sobre su función (p. ej., tripsina), o se utilizaban varios nombres para la misma enzima. Las enzimas solían nombrarse añadiendo el sufijo *-asa* al nombre del sustrato. Por ejemplo, la ureasa cataliza la hidrólisis de la urea. Para eliminar la confusión, la Unión Internacional de Bioquímica (UIB) instituyó un esquema de denominación sistemática para las enzimas. Cada enzima se clasifica en la actualidad de acuerdo con la clase de reacción que cataliza. En este esquema, a cada enzima se le asigna una clasificación de cuatro números y un nombre con dos partes

denominado *nombre sistemático*. Además, la UIB sugiere para el uso diario una versión más corta del nombre sistemático denominada *nombre recomendado*. Por ejemplo, la alcohol: NAD^+ oxidorreductasa (E.C. 1.1.1.1) se denomina habitualmente alcohol deshidrogenasa. (Las letras E.C. son una abreviatura de *Enzyme Commission*, Comisión de enzimas.) Debido a que muchas enzimas se descubrieron antes de instituirse la nomenclatura sistemática, muchos de los nombres antiguos ya establecidos se han conservado.

Las seis categorías principales de enzimas son las siguientes:

1. **Oxidorreductasas**. Las **oxidorreductasas** catalizan reacciones de oxidación-reducción. Entre las subclases de este grupo se encuentran deshidrogenasas, oxidasas, oxigenasas, reductasas, peroxidasas e hidrolasas.
2. **Transferasas**. Las **transferasas** catalizan reacciones en las que hay una transferencia de grupos de una molécula a otra. Entre los ejemplos de estos grupos están amino, carboxilo, carbonilo, metilo, fosforilo y acilo (RC=O). Los nombres comunes triviales suelen incluir el prefijo *trans*. Entre los ejemplos están transcarboxilasas, transmetilasas y transaminasas.
3. **Hidrolasas**. Las **hidrolasas** catalizan reacciones en las que se produce la rotura de enlaces por la adición de agua. Entre las hidrolasas están esterasas, fosfatasas y peptidasas.
4. **Liasas**. Las **liasas** catalizan reacciones en las que se eliminan grupos (p. ej., H_2O, CO_2 y NH_3) para formar un doble enlace o se añaden a un doble enlace. Los ejemplos son liasas, descarboxilasas, hidratasas, deshidratasas, desaminasas y sintasas.
5. **Isomerasas**. Se trata de un grupo heterogéneo de enzimas. Las **isomerasas** catalizan varios tipos de reordenamientos intramoleculares. Las epimerasas catalizan la inversión de átomos de carbono asimétricos. Las mutasas catalizan la transferencia intramolecular de grupos funcionales.
6. **Ligasas**. Las **ligasas** catalizan la formación de un enlace entre dos moléculas de sustrato. La energía para estas reacciones la aporta siempre la hidrólisis del ATP. Los nombres de muchas ligasas incluyen el término *sintetasa*. Otras ligasas se denominan carboxilasas.

En el Cuadro 6.1 se proporciona un ejemplo de cada clase de enzima.

CUADRO 6-1

Ejemplos seleccionados de enzimas

Clase enzimática	Ejemplo	Reacción catalizada
Oxidorreductasas	Alcohol deshidrogenasa	$CH_3-CH_2-OH + NAD^+ \longrightarrow CH_3-CH{=}O + NADH + H^+$
Transferasas	Hexoquinasa	Glucosa + ATP ⟶ Glucosa-6-fosfato + ADP
Hidrolasas	Quimotripsina	Polipéptido + H_2O ⟶ Péptidos
Liasas	Piruvato descarboxilasa	$^-O-C(=O)-C(=O)-CH_3 + H^+ \longrightarrow H-C(=O)-CH_3 + CO_2$ (Piruvato)
Isomerasas	Alanina racemasa	D-Alanina ⇌ L-Alanina
Ligasas	Piruvato carboxilasa	$CH_3-C(=O)-C(=O)-O^- + HCO_3^- \xrightarrow{ATP \quad ADP + P_i} {^-O}-C(=O)-CH_2-C(=O)-C(=O)-O^-$ (Piruvato → Oxaloacetato)

PREGUNTA 6.2

¿Qué tipo de enzima cataliza cada una de las siguientes reacciones?

a. $HO-C(=O)-CH=CH-C(=O)-OH$ (grupos C—OH en lados opuestos) $\longrightarrow$ $HO-C(=O)-CH=CH-C(=O)-OH$ (ambos grupos C—OH del mismo lado)

b. $CH_3-S-CH_2-C(=O)-OH + H_2N-CH(CH_3)-CH_3 \longrightarrow HS-CH_2-C(=O)-OH + CH_3-NH-CH(CH_3)-CH_3$

c. $CH_3-CH(OH)-CH_3 \longrightarrow CH_3-CH=CH_2 + H_2O$

d. $CH_3-CH_2-CH_2-C(=O)-OH \xrightarrow{NAD^+ \rightarrow NADH + H^+} CH_3-CH=CH-C(=O)-OH$

e. $2\,H_2N-CH_2-C(=O)-OH \xrightarrow{ATP \rightarrow ADP + P_i} H_2N-CH_2-C(=O)-NH-CH_2-C(=O)-OH + H_2O$

f. $CH_3-C(=O)-O-CH_3 + H_2O \longrightarrow CH_3-C(=O)-OH + CH_3-OH$

PREGUNTA 6.3

El aspartamo, un edulcorante artificial, tiene la siguiente estructura:

$$H_3\overset{+}{N}-CH(CH_2-C(=O)-O^-)-C(=O)-NH-CH(CH_2-C_6H_5)-C(=O)-OCH_3$$

Una vez consumido en alimentos o bebidas, el aspartamo se degrada en el tubo digestivo en sus moléculas componentes. Prediga cuáles son los productos de este proceso. ¿Qué clase de enzimas participan?

6.3. CINÉTICA ENZIMÁTICA

Recuerde del Capítulo 4 que los principios de la termodinámica pueden predecir cuándo una reacción es espontánea. Sin embargo, las magnitudes termodinámicas no proporcionan ninguna información con relación a las velocidades de reacción. Para que le sean útiles a un organismo, las reacciones bioquímicas deben producirse a velocidades razonables. La **velocidad** de una reacción bioquímica se define como el cambio de la concentración de un reactante o producto por unidad de tiempo. La velocidad inicial v_0 de la reacción A → P, donde A = sustrato y P = producto, es

$$v_0 = \frac{-\Delta[A]}{\Delta t} = \frac{\Delta[P]}{\Delta t} \tag{4}$$

donde

[A] = concentración del sustrato
[P] = concentración del producto
t = tiempo

La velocidad inicial (v_0), la velocidad cuando [A] es mucho mayor que la concentración de la enzima [E] y el tiempo de reacción es muy corto, es la velocidad de la reacción inmediatamente después de mezclar la enzima y el sustrato. Se mide debido a que puede suponerse que la reacción inversa (es decir, la conversión del producto en sustrato), si es posible, no se ha producido aún en una cuantía apreciable.

El estudio cuantitativo de la catálisis enzimática, que se denomina **cinética enzimática**, proporciona información sobre las velocidades de reacción. Los estudios cinéticos miden también la afinidad de las enzimas por los sustratos y los inhibidores, y proporcionan conocimientos sobre los mecanismos de reacción. La cinética enzimática tiene varias aplicaciones prácticas, que incluyen una mejor comprensión de las fuerzas que regulan las rutas metabólicas y el diseño de tratamientos más adecuados.

La velocidad de la reacción anterior es proporcional a la frecuencia con la que las moléculas reaccionantes forman el producto. La velocidad de reacción es

$$v_0 = k[A]^x \tag{5}$$

donde
v_0 = velocidad
k = una constante de velocidad que depende de las condiciones de reacción (p. ej., temperatura, pH y fuerza iónica)
x = orden de la reacción

CONCEPTOS CLAVE 6.2

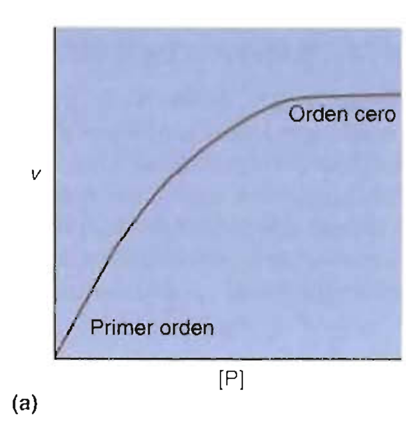
La cinética enzimática es el estudio cuantitativo de la catálisis enzimática. Los estudios cinéticos miden las velocidades de reacción y la afinidad de las enzimas por los sustratos y los inhibidores. La cinética proporciona también conocimientos sobre los mecanismos de la reacción.

Combinando las ecuaciones (4) y (5), tenemos

$$\frac{\Delta[A]}{\Delta t} = -k[A]^x \tag{6}$$

Otro término que es útil para describir una reacción es el *orden* de la reacción. El orden se determina de forma empírica, es decir, mediante experimentación (Fig. 6.3). Se define el orden como la suma de los exponentes de los términos de concentración en la expresión de velocidad. La determinación del orden de una reacción permite a un experimentador obtener determinadas conclusiones con relación al mecanismo de la reacción. Se dice que una reacción sigue *una cinética de primer orden* cuando la velocidad depende de la primera potencia de la concentración de un único reactante y sugiere que el paso limitante de la velocidad es una reacción unimolecular (es decir, no se requieren colisiones moleculares). En la reacción A → P la ecuación experimental de velocidad se transforma en

$$\text{Velocidad} = k[A]^1 \tag{7}$$



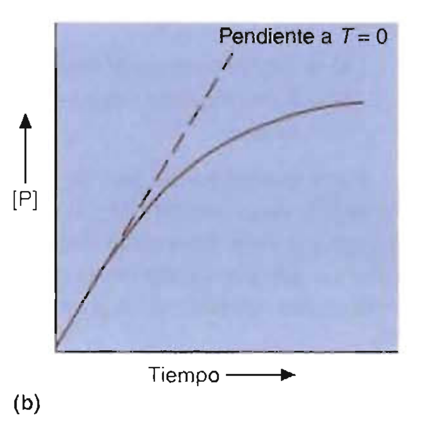


FIGURA 6-3

Estudios cinéticos enzimáticos.

(a) Representación de la velocidad inicial v frente a la concentración de sustrato [S]. La velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de sustrato sólo cuando [S] es baja. Cuando [S] se hace lo suficientemente elevada, de forma que la enzima se satura, la velocidad de la reacción es de orden cero con respecto al sustrato. A concentraciones intermedias de sustrato, la reacción tiene un orden mixto (es decir, el efecto del sustrato sobre la velocidad de reacción está en transición). (b) Conversión del sustrato en producto por unidad de tiempo. La pendiente de la curva a $t = 0$ es igual a la velocidad inicial de la reacción.

Si [A] se duplica, se observa que la velocidad se duplica. La reducción de [A] a la mitad da lugar a la reducción a la mitad de la velocidad de reacción observada. En las reacciones de primer orden, la concentración del reactante es función del tiempo, de forma que k se expresa en unidades de s^{-1}. En cualquier reacción, el tiempo que se requiere para que se consuman la mitad de las moléculas reactantes se denomina *vida media* ($t_{1/2}$).

En la reacción A + B → P, si el orden de A y B es 1 para cada uno, se dice que la reacción es de *segundo orden* y A y B deben chocar para que se forme el producto (una reacción biomolecular):

$$\text{Velocidad} = k[A]^1[B]^1 \tag{8}$$

En estas circunstancias, la velocidad de reacción depende de las concentraciones de los dos reactantes. En otras palabras, ambos, A y B, toman parte del paso determinante de la velocidad de reacción. Las constantes de velocidad de segundo orden se miden en unidades de $M^{-1}s^{-1}$. Algunas veces las reacciones de segundo orden implican reactantes como el agua que están presentes en gran exceso:

$$A + H_2O \rightarrow P$$

La expresión de velocidad de segundo orden es

$$\text{Velocidad} = k[A]^1[H_2O]^1$$

Sin embargo, debido a que el agua se encuentra presente en exceso, la reacción parece ser de primer orden. Estas reacciones se dice que son de *pseudo-primer orden*. Las reacciones de hidrólisis en los sistemas biológicos se supone son de pseudo-primer orden debido a la fácil disponibilidad del segundo reactante, el H_2O, en los ambientes acuosos.

Otra posibilidad es que sólo uno de los dos reactantes participe en el paso determinante de la velocidad y aparezca sólo él en la expresión de velocidad. Para el ejemplo anterior, si velocidad = $k[A]^2$, entonces el paso limitante de la velocidad

implica choques entre moléculas de A. El agua participa en el paso rápido que no limita la velocidad en el mecanismo de reacción.

Cuando la adición de un reactante no altera la velocidad de reacción, la reacción se dice que es de *orden cero* para el reactante. Para la reacción A → P, la expresión de velocidad determinada experimentalmente es

$$\text{Velocidad} = k[\text{A}]^0 = k \qquad (10)$$

La velocidad es constante debido a que la concentración del reactante es lo suficientemente elevada para saturar todos los lugares catalíticos en las moléculas de enzima.

En el problema 6.1 se da un ejemplo de determinación del orden.

PROBLEMA 6.1

Considere la siguiente reacción:

$$H_3\overset{+}{N}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- + H_2O \longrightarrow 2\,H_3\overset{+}{N}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^-$$

Dados los siguientes datos de velocidad, determine el orden de cada reactante y el orden global de la reacción. Las concentraciones se dan en moles por litro. Las velocidades se miden en milimoles por segundo.

[Glicilglicina]	$[H_2O]$	**Velocidad**
0.1	0.1	1×10^2
0.2	0.1	2×10^2
0.1	0.2	2×10^2
0.2	0.2	4×10^2

Solución

La expresión de velocidad global es

$$\text{Velocidad} = k[\text{Glicilglicina}]^x[H_2O]^y$$

Para evaluar x e y, determine el efecto sobre la velocidad de reacción del aumento de la concentración de un reactante mientras se mantiene constante la concentración del otro.

Para este experimento, al duplicar la concentración de glicilglicina se duplica la velocidad de la reacción; por lo tanto, x es igual a 1. Duplicar la concentración de agua duplica la velocidad de la reacción, de forma que y también es igual a 1. La expresión de velocidad es entonces

$$\text{Velocidad} = k[\text{Glicilglicina}]^1[H_2O]^1$$

La reacción es de primer orden para ambos reactantes y, globalmente, de segundo orden.

Cinética de Michaelis-Menten

Uno de los modelos más útiles en la investigación sistemática de las velocidades enzimáticas fue propuesto por Leonor Michaelis y Maud Menten en 1913. El concepto del complejo enzima-sustrato, enunciado por vez primera por Victor Henri en 1903, es central para la cinética de Michaelis-Menten. Cuando se une el sustrato S en el lugar activo de una enzima E, se forma un complejo intermediario (ES). Durante el estado de transición, el sustrato se convierte en producto. Tras un breve espacio de tiempo, el producto se disocia de la enzima. Este proceso puede resumirse como sigue:

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \overset{k_3}{\rightarrow} E + P \qquad (11)$$

donde

k_1 = constante de velocidad de la formación de ES

k_2 = constante de velocidad de la disociación de ES

k_3 = constante de velocidad de la formación y liberación del producto del lugar activo.

La ecuación (11) ignora la reversibilidad del paso en el que el complejo ES se convierte en enzima y producto. Esta simplificación es posible si se mide la velocidad de reacción cuando [P] es aún muy baja. Recuerde que en la mayoría de los estudios cinéticos se miden las velocidades iniciales.

De acuerdo con el modelo de Michaelis-Menten, tal como se considera en la actualidad, se supone que (1) k_2 es despreciable en comparación con k_1, y (2) la velocidad de formación de ES es igual a la velocidad de su degradación durante la mayor parte del curso de la reacción. (Esta última premisa se denomina *suposición del estado estacionario.*)

$$\text{Velocidad} = \frac{\Delta P}{\Delta t} = k_3[\text{ES}] \qquad (12)$$

Para que sea de utilidad, la velocidad de una reacción debe definirse en términos de [S] y [E]. La velocidad de formación de ES es igual a k_1[E][S], mientras que la velocidad de disociación de ES es igual a $(k_2 + k_3)$[ES]. La suposición del estado estacionario iguala estas dos velocidades:

$$k_1[\text{E}][\text{S}] = (k_2 + k_3)[\text{ES}] \qquad (13)$$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{E}][\text{S}]}{(k_2 + k_3)/k_1} \qquad (14)$$

Michaelis y Menten introdujeron una nueva constante, K_m (denominada actualmente *constante de Michaelis*):

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \qquad (15)$$

También obtuvieron la ecuación

$$v = \frac{V_{máx}[\text{S}]}{[\text{S}] + K_m} \qquad (16)$$

donde $V_{máx}$ = Velocidad máxima que puede alcanzar la reacción. Esta ecuación, que se denomina *ecuación de Michaelis-Menten*, ha demostrado ser muy útil para definir determinados aspectos del comportamiento enzimático. Por ejemplo, cuando [S] es igual a K_m, el denominador de la ecuación (16) es igual a 2[S], y v es igual a $V_{máx}/2$ (Fig. 6.4). El valor de K_m determinado experimentalmente se considera una constante que es característica de la enzima y del sustrato en condiciones especificadas. Puede reflejar la afinidad de la enzima por su sustrato. (Si k_3 es mucho menor que k_2, es decir, $k_3 \ll k_2$, entonces el valor de K_m se aproxima a k_2/k_1. En estas circunstancias, K_m es la constante de disociación del complejo ES.) Cuanto menor es el valor de K_m, mayor es la afinidad de la enzima por la formación del complejo ES.

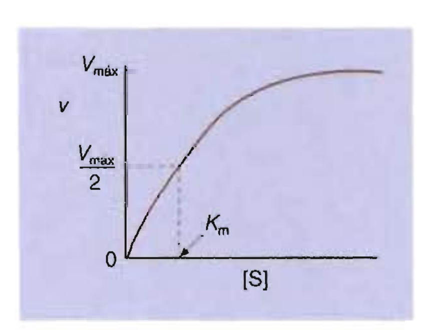


FIGURA 6-4

Velocidad de reacción v y concentración de sustrato [S] para una reacción característica catalizada por una enzima.

K_m es la concentración de sustrato a la que la enzima tiene la mitad de la velocidad máxima.

Las propiedades cinéticas de una enzima también pueden utilizarse para determinar su eficacia catalítica. El **número de recambio** (k_{cat}) de una enzima se define como

$$k_{cat} = \frac{V_{máx}}{[\text{E}_t]} \qquad (17)$$

donde

k_{cat} = número de moléculas de sustrato convertidas en producto por unidad de tiempo por una molécula enzimática en condiciones óptimas, es decir, saturada con el sustrato.

$[\text{E}_t]$ = concentración total de enzima

En condiciones fisiológicas, [S] es habitualmente menor que K_m. Una medida más útil de la eficacia catalítica se obtiene reordenando la ecuación (17) de la siguiente forma

$$V_{max} = k_{cat}[\text{E}_t] \qquad (18)$$

y sustituyendo esta función en la ecuación de Michaelis-Menten (ecuación 16):

$$v = \frac{k_{cat}[E_t][S]}{K_m + [S]} \qquad (19)$$

Cuando [S] es muy baja, $[E_t]$ es aproximadamente igual a [E] y la ecuación (19) se reduce a

$$v = (k_{cat}/K_m)[E][S] \qquad (20)$$

En la ecuación (20) el término k_{cat}/K_m es la constante de velocidad para una reacción en la que $[S] \ll K_m$. En esta reacción, [S] es lo suficientemente baja para que el valor k_{cat}/K_m refleje el impacto combinado de la unión y la catálisis y es, por lo tanto, una medida fiable de la eficacia catalítica. En el Cuadro 6.2 se proporcionan ejemplos de valores de k_{cat}, K_m y k_{cat}/K_m de algunas enzimas. Debe tenerse en cuenta que el límite superior del valor k_{cat}/K_m no puede exceder del valor máximo de la velocidad a la que la enzima puede unirse a las moléculas de sustrato (k_1). Este límite viene impuesto por la velocidad de difusión del sustrato en el lugar activo de la enzima. El *límite del control de la difusión* de las reacciones enzimáticas es aproximadamente de 10^8 a 10^9 M^{-1} s^{-1}. Varias enzimas, por ejemplo las del Cuadro 6.2,

CONCEPTOS CLAVE 6.3

El modelo cinético de Michaelis-Menten explica varios aspectos del comportamiento de muchas enzimas. Cada enzima tiene un valor de K_m característico en condiciones especificadas.

CUADRO 6-2

Valores de k_{cat}, K_m y k_{cat}/K_m de enzimas seleccionadas*

Enzima	Reacción catalizada	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
Acetilcolinesterasa	$H_3C—C(=O)—O—CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 + H_2O \rightarrow$ **Acetilcolina** → $CH_3C(=O)—O^- + HO—CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 + H^+$ **Acetato**, **Colina**	1.4×10^4	9×10^5	1.6×10^8
Anhidrasa carbónica	$HCO_3^- + H^+ \rightleftharpoons CO_2 + H_2O$	4×10^5	0.026	1.5×10^7
Catalasa	$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$	4×10^7	1.1	4×10^7
Fumarasa	$^-O—C(=O)—CH{=}CH—C(=O)—O^- + H_2O \rightleftharpoons$ **Fumarato** → $^-O—C(=O)—CH(OH)—CH_2—C(=O)—O^-$ **Malato**	8×10^2	5×10^6	1.6×10^8
Triosafosfato isomerasa	$H—C(=O)—CH(OH)—CH_2O—P(=O)(O^-)—O^- \rightleftharpoons$ **Gliceraldehído-3-fosfato** → $HO—CH_2—C(=O)—CH_2—O—P(=O)(O^-)—O^-$ **Dihidroxiacetona fosfato**	4.3×10^3	4.7×10^4	24×10^8

* Adaptado de Fersht, A., *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*, 2.ª ed., W.H. Freeman, New York, 1999.

poseen valores de k_{cat}/K_m que se aproximan al límite del control de la difusión. Debido a que las enzimas convierten el sustrato en producto prácticamente cada vez que el sustrato difunde al lugar activo, se dice que ha conseguido la *perfección catalítica*. Los seres vivos superan el límite del control de la difusión para las enzimas en las rutas bioquímicas que no consiguen este grado elevado de eficacia catalítica organizándose en complejos multienzimáticos. En estos complejos, los lugares activos de las enzimas están tan próximos que la difusión no es un factor en la transferencia de las moléculas de sustrato y producto.

La actividad enzimática se mide en *unidades internacionales* (UI). Se define una UI como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de producto por minuto. La **actividad específica** de una enzima, una magnitud que se utiliza para controlar la purificación de la enzima, se define como el número de unidades internacionales por miligramo de proteína. (Recientemente se ha introducido una unidad nueva de medida de la actividad enzimática denominada *katal*. Un katal (kat) indica la cantidad de enzima que transforma 1 mol de sustrato por segundo. Un katal es igual a 6×10^7 UI).

En el Problema 6.2 se da un ejemplo de determinación cinética.

PROBLEMA 6.2

Considere la representación de Michaelis-Menten de la Figura 6.5. Identifique los siguientes puntos de la curva:

a. $V_{máx}$
b. K_m

Solución

a. $V_{máx}$ es la velocidad máxima que puede alcanzar la enzima. Un incremento mayor de la concentración de sustrato no aumenta la velocidad.
b. K_m = [S] a $V_{máx}/2$

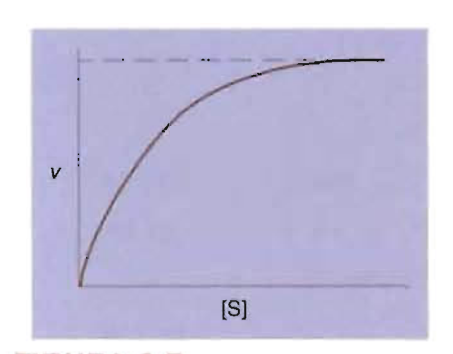


FIGURA 6-5
Representación de Michaelis-Menten.

Representaciones de Lineweaver-Burk

Los valores de K_m y $V_{máx}$ de una enzima se determinan midiendo las velocidades iniciales de reacción a varias concentraciones de sustrato. Los valores aproximados de K_m y $V_{máx}$ pueden obtenerse construyendo un gráfico como el de la Figura 6.4. Un método de determinación más exacto de estos valores se obtiene con una transformación algebraica de los datos. La ecuación de Michaelis-Menten, cuya gráfica es una hipérbola,

$$v = \frac{V_{máx}[S]}{[S] + K_m}$$

puede reordenarse obteniendo su inversa:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{máx}}\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}}$$

Se representan las inversas de las velocidades iniciales frente a las inversas de las concentraciones de sustrato. En estos gráficos, que se denominan *representaciones dobles inversas de Lineweaver-Burk*, la línea recta que se genera tiene la forma $y = mx + b$, donde y y x son variables ($1/v$ y $1/[S]$, respectivamente), y m y b son constantes (K_m/V_{max} y $1/V_{máx}$, respectivamente). La pendiente de la línea recta es $K_m/V_{máx}$ (Fig. 6.6). Como se indica en la Figura 6.6, la intersección sobre el eje vertical es $1/V_{máx}$. La intersección sobre el eje horizontal es $-1/K_m$.

El Problema 6.3 es un ejemplo de problema de cinética que utiliza la representación de Lineweaver-Burk.

PROBLEMA 6.3

Considere la representación de Lineweaver-Burk de la Figura 6.7. Identifique:

a. $-1/K_m$
b. $1/V_{máx}$
c. $K_m/V_{máx}$

Solución

a. $A = -1/K_m$
b. $B = 1/V_{máx}$
c. $K_m/V_{máx}$ = pendiente

Inhibición enzimática

La actividad de las enzimas puede inhibirse. Las moléculas que reducen la actividad de una enzima, denominadas **inhibidores**, incluyen muchos fármacos, antibióticos, conservantes alimentarios y venenos. Las investigaciones de la inhibición enzimática y de los inhibidores llevada a cabo por los bioquímicos son importantes por varias razones. En primer lugar, y la razón más importante, en los seres vivos la inhibición enzimática es un medio importante para regular las rutas metabólicas. Habitualmente, para modular las velocidades de las reacciones enzimáticas específicas se emplean pequeñas biomoléculas, de forma que se satisfagan las necesidades del organismo. En segundo lugar, numerosos tratamientos clínicos se fundamentan en la inhibición enzimática. Por ejemplo, muchos antibióticos y fármacos reducen o eliminan la actividad de enzimas específicas. Actualmente, el tratamiento más eficaz contra el SIDA utiliza varios fármacos que incluyen inhibidores de proteasas, moléculas que incapacitan a una enzima vírica que se requiere para formar virus nuevos. Finalmente, las investigaciones de la inhibición enzimática han permitido a los bioquímicos diseñar técnicas que se utilizan para demostrar la arquitectura física y química, así como las propiedades funcionales de las enzimas.

La inhibición enzimática puede producirse cuando un compuesto compite con el sustrato por el lugar activo de la enzima libre, se une al complejo ES en un lugar separado del lugar activo, o se une a la enzima libre en un lugar separado del lugar activo. Se describen tres clases de inhibidores enzimáticos: competitivos, acompetitivos y no competitivos.

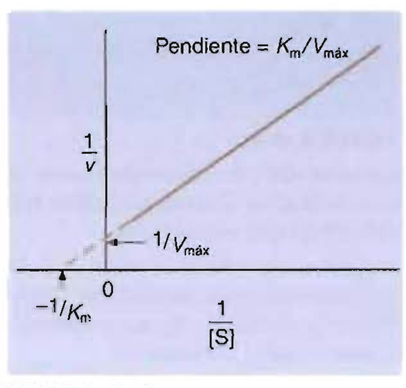
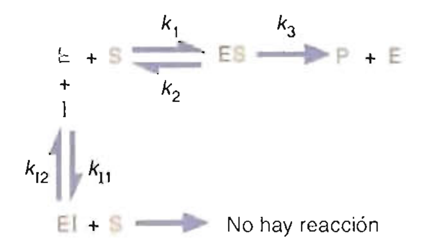


FIGURA 6-6
Representación de Lineweaver-Burk. Si una enzima obedece la cinética de Michaelis-Menten, la representación de la inversa de la velocidad de reacción $1/v$ frente a la inversa de la concentración de sustrato $1/[S]$ se ajusta a una línea recta. La pendiente de la línea es $K_m/V_{máx}$. La intersección con el eje vertical es $1/V_{máx}$ y la intersección con el eje horizontal $-1/K_m$.

INHIBIDORES COMPETITIVOS Los inhibidores competitivos se unen de forma reversible a la enzima libre, y no al complejo ES, para formar un complejo enzima-inhibidor (EI).



Con frecuencia, el sustrato y el inhibidor compiten por el mismo lugar en la enzima. La concentración del complejo EI depende de la concentración del inhibidor libre y de la constante de disociación K_i:

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{k_{12}}{k_{11}}$$

Debido a que el complejo EI se disocia fácilmente, la enzima está disponible de nuevo para unir al sustrato. La actividad de la enzima disminuye (Fig. 6.8) debido a que no se produce una reacción productiva durante el tiempo limitado que existe el complejo EI. El efecto de un inhibidor competitivo sobre la actividad puede invertirse aumentando la concentración de sustrato. A [S] elevadas, todos los lugares activos están llenos de sustrato y la velocidad de reacción alcanza el valor que se observa sin un inhibidor.

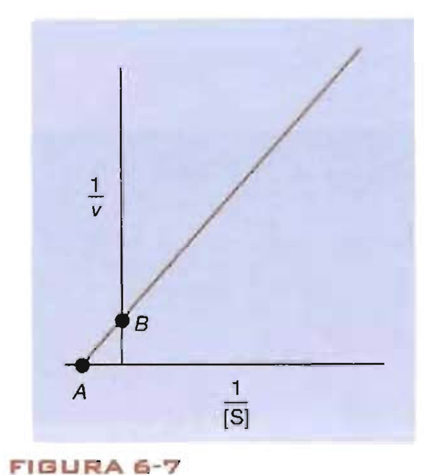


FIGURA 6-7
Representación de Lineweaver-Burk.

Las sustancias que se comportan como inhibidores competitivos, es decir, que reducen la afinidad aparente de una enzima por el sustrato, suelen tener una estructura semejante a la del sustrato. Entre estas moléculas hay productos de reacción o análogos que no se metabolizan, o derivados del sustrato. La succinato deshidroge-

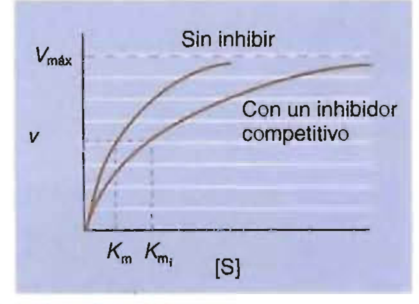


FIGURA 6-8

Representación de Michaelis-Menten de una actividad enzimática sin inhibir frente a una inhibición competitiva.

Se representa la velocidad inicial v frente a la concentración de sustrato [S]. Con la inhibición competitiva, la $V_{máx}$ permanece constante y la K_m aumenta.

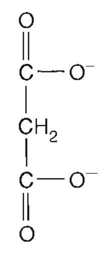


FIGURA 6-9

Malonato.

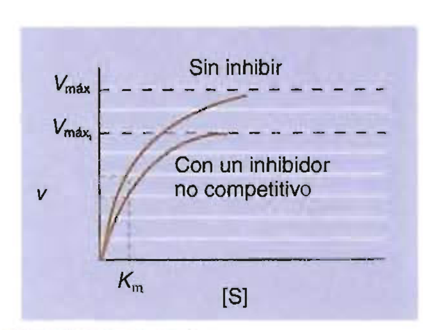


FIGURA 6-10

Representación de Michaelis-Menten de una actividad enzimática sin inhibir frente a una inhibición no competitiva.

Se representa la velocidad inicial v frente a la concentración de sustrato [S]. Con la inhibición no competitiva, la $V_{máx}$ desciende y la K_m permanece constante.

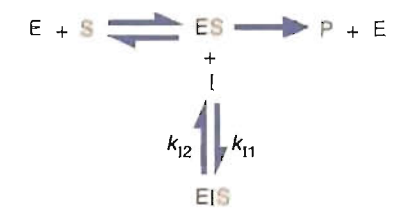
nasa, una enzima del ciclo del ácido cítrico de Krebs (Capítulo 9), cataliza una reacción redox que convierte el succinato en fumarato.

[O]
2 H

Succinato Fumarato

Esta reacción está inhibida por el malonato (Fig. 6.9). El malonato se une al lugar activo de la enzima pero no puede convertirse en producto.

INHIBIDORES ACOMPETITIVOS En la inhibición acompetitiva, el inhibidor sólo se une al complejo enzima-sustrato, y no a la enzima libre:

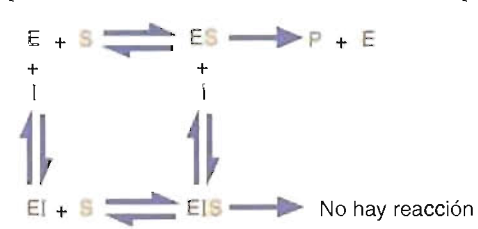


La constante de disociación para el paso de unión de un inhibidor acompetitivo a una enzima es

$$K_I = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

La adición de más sustrato a la reacción da lugar a un aumento de la velocidad de reacción, pero no hasta el grado que se observa en las reacciones sin inhibir. La inhibición acompetitiva suele observarse en las reacciones en las que las enzimas unen más de un sustrato.

INHIBIDORES NO COMPETITIVOS En algunas reacciones catalizadas por enzimas el inhibidor puede unirse tanto a la enzima como al complejo enzima-sustrato:



En estas circunstancias, que se denominan inhibición **no competitiva**, el inhibidor se une a un lugar diferente del lugar activo. La unión del inhibidor ocasiona la modificación de la conformación de la enzima que impide la formación del producto (Fig. 6.10). Normalmente, los inhibidores no competitivos no afectan a la unión del sustrato y se parecen poco o nada a éste. Como con los inhibidores acompetitivos, la inhibición no competitiva sólo se invierte parcialmente aumentando la concentración de sustrato. Los análisis de las reacciones inhibidas por inhibidores no competitivos suelen ser complejos por varias razones. Igual que la inhibición acompetitiva, la inhibición no competitiva normalmente implica dos o más sustratos. De esta forma, las características de la inhibición que se observan pueden depender en parte de factores como el orden en el que se unen los diferentes sustratos. Además, para la unión de los inhibidores no competitivos existen dos determinaciones de K_I.

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

y

$$K_I' = \frac{[E][S][I]}{[EIS]}$$

Dependiendo del inhibidor que se considere, los valores de estas constantes de disociación pueden ser o no equivalentes. Existen dos formas de inhibición no competitiva: pura y mixta. En la inhibición no competitiva pura, que es un fenómeno poco frecuente, ambos valores de K_I son equivalentes. La inhibición no competitiva mixta es de forma característica más complicada debido a que los valores de K_I son diferentes.

ANÁLISIS CINÉTICO DE LA INHIBICIÓN ENZIMÁTICA La inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva puede diferenciarse fácilmente con representaciones dobles inversas (Fig. 6.11). En dos conjuntos de determinaciones de la velocidad, la concentración de la enzima se mantiene constante. En el primer experimento, se establece la velocidad de la enzima sin inhibir. En el segundo experimento, se incluye una cantidad constante de inhibidor en cada análisis enzimático. La Figura 6.11 detalla los diferentes efectos que tienen los inhibidores sobre la actividad enzimática. La inhibición competitiva aumenta la K_m de la enzima y mantiene la $V_{máx}$ inalterada. (Esto se demuestra en las representaciones dobles inversas como un desplazamiento de la intersección horizontal.) En la inhibición acompetitiva se modifican ambas K_m y $V_{máx}$, aunque su cociente permanece igual. En la inhibición no competitiva, disminuye $V_{máx}$ (es decir, se desplaza la intersección vertical) y aumenta la K_m (la K_m no varía en los casos, poco habituales, en los que los valores de la k de unión a E y ES sean los mismos).

INHIBICIÓN IRREVERSIBLE La inhibición puede ser reversible o irreversible. En la inhibición reversible (es decir, inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva), el inhibidor puede disociarse de la enzima debido a que se une mediante enlaces no covalentes. Los inhibidores irreversibles normalmente se unen covalentemente a la enzima, con frecuencia a una cadena lateral del lugar activo. Por ejemplo, las enzimas que contienen grupos sulfhidrilo libres pueden reaccionar con agentes alquilantes como el yodoacetato:

$$\text{Enzima}-CH_2-SH + I-CH_2-C(=O)-O^- \longrightarrow \text{Enzima}-CH_2-S-CH_2-C(=O)-O^- + HI$$

CONCEPTOS CLAVE 6.4

La mayor parte de la inhibición de las enzimas es competitiva, acompetitiva, o no competitiva. Los inhibidores competitivos compiten reversiblemente con el sustrato por el mismo lugar en la enzima libre. Los inhibidores acompetitivos sólo se unen al complejo enzima-sustrato y no a la enzima libre. Los inhibidores no competitivos pueden unirse tanto a la enzima como al complejo enzima-sustrato.

(a) (b) (c)

FIGURA 6-11

Análisis cinético de la inhibición enzimática.

(a) Inhibición competitiva. Las representaciones de $1/v$ frente a $1/[S]$ en presencia de varias concentraciones del inhibidor cortan en el mismo punto sobre el eje **vertical**, $1/V_{máx}$. (b) Inhibición acompetitiva. Las representaciones de $1/v$ frente a $1/[S]$ en presencia de varias concentraciones del inhibidor no tienen una intersección común ni en el eje horizontal ni en el eje vertical. (c) Inhibición no competitiva. Las representaciones de $1/v$ frente a $1/[S]$ en presencia de varias concentraciones del inhibidor cortan en el mismo punto sobre el eje **horizontal**, $-1/K_m$. En la inhibición no competitiva las constantes de disociación de ES y ESI se supone que son las mismas.

La gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, una enzima de la ruta glucolítica (Capítulo 8), se inactiva por la alquilación con yodoacetato. Las enzimas que utilizan grupos sulfhidrilo para formar enlaces covalentes con cofactores metálicos con frecuencia se inhiben de forma irreversible por metales pesados (p. ej., mercurio y plomo). La anemia en el envenenamiento por plomo está producida en parte por la unión del plomo a los grupos sulfhidrilo de la ferroquelatasa. La ferroquelatasa cataliza la inserción de Fe^{2+} en el hemo.

El problema 6.4 está relacionado con la inhibición enzimática.

PROBLEMA 6.4

Considere la representación de Lineweaver-Burk de la Figura 6.12.

Línea *A* = reacción enzimática normal
Línea *B* = se ha añadido el compuesto B
Línea *C* = se ha añadido el compuesto C
Línea *D* = se ha añadido el compuesto D

Identifique el tipo de acción inhibitoria de los compuestos B, C y D.

Solución

El compuesto B es un inhibidor competitivo, ya que sólo ha variado la K_m. El compuesto C es un inhibidor no competitivo puro, ya que sólo ha cambiado la $V_{máx}$. El compuesto D es un inhibidor acompetitivo, ya que cambian tanto la K_m como la $V_{máx}$.

PREGUNTA 6.4

La yodoacetamida es un inhibidor reversible de varias enzimas que tienen un residuo de cisteína en sus lugares activos. Tras examinar su estructura prediga los productos de la reacción de la yodoacetamida con una enzima así.

$$I-CH_2-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-NH_2$$



ENZIMAS ALOSTÉRICAS Aunque el modelo de Michaelis-Menten es una herramienta inestimable, no explica las propiedades cinéticas de muchas enzimas. Por ejemplo, las representaciones de la velocidad de reacción frente a la concentración de sustrato para muchas enzimas con varias subunidades son sigmoideas en lugar de hiperbólicas, como predice el modelo de Michaelis-Menten (Fig. 6.13). Estos efectos se ven en un grupo importante de enzimas denominadas **enzimas alostéricas**. La curva de unión del sustrato de la Figura 6.13 se parece a la curva de unión del oxígeno a la hemoglobina. Existen otras semejanzas entre las enzimas alostéricas y la hemoglobina. La mayoría de las enzimas alostéricas son proteínas con varias subunidades. La unión del sustrato a un protómero en una enzima alosté-

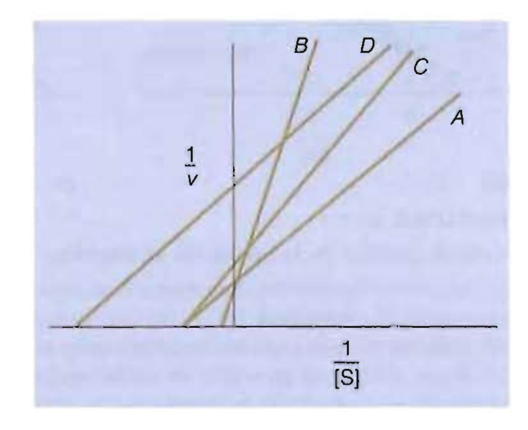
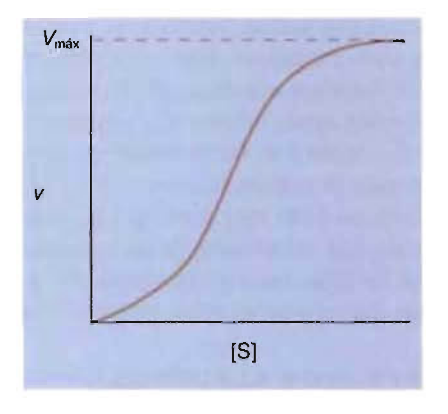


FIGURA 6-12
Representación de Lineweaver-Bruk.

FIGURA 6-13

Perfil cinético de una enzima alostérica.

La curva de unión sigmoidea que presentan muchas enzimas alostéricas se asemeja a la curva de unión cooperativa del O_2 a la hemoglobina.



rica afecta a las propiedades de unión de los protómeros adyacentes. Además, la actividad de las enzimas alostéricas se ve afectada por moléculas efectoras que se unen a otros lugares denominados *lugares alostéricos* o *reguladores*. Las enzimas alostéricas generalmente catalizan pasos reguladores clave de las rutas bioquímicas. (La regulación de las enzimas alostéricas se estudia en la pág. 190)

PREGUNTA 6.5

Beber metanol puede producir ceguera al ser humano, así como acidosis grave potencialmente mortal. El metanol es tóxico debido a que en el hígado se convierte en formaldehído y ácido fórmico por las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa. El envenenamiento con metanol se trata con diálisis e infusiones de bicarbonato y etanol. Explique por qué se utiliza cada tratamiento.

6.4 CATÁLISIS

A pesar de lo valiosos que son los estudios cinéticos, explican poco acerca de la forma en la que las enzimas catalizan las reacciones bioquímicas. Los bioquímicos utilizan otras técnicas para investigar los mecanismos catalíticos de las enzimas. (Un *mecanismo* es un conjunto de pasos en una reacción química mediante el cual un sustrato se transforma en un producto.) Las investigaciones del mecanismo enzimático buscan relacionar la actividad enzimática con la estructura y función del lugar activo. Se utilizan la cristalografía de rayos X, la inactivación química de las cadenas laterales del lugar activo y los estudios que emplean como sustratos compuestos modelo sencillos.

Mecanismos catalíticos

A pesar de una investigación extensa, sólo se conocen con un detalle suficiente los mecanismos de unas pocas enzimas. Sin embargo, cada vez está más claro que las enzimas utilizan los mismos mecanismos catalíticos que la catálisis no enzimática. Las enzimas consiguen velocidades catalíticas significativamente superiores debido a que sus lugares activos poseen estructuras que están singularmente adecuadas para favorecer la catálisis.

Varios factores contribuyen a la catálisis enzimática. Los más importantes son (1) los efectos de proximidad y tensión, (2) los efectos electrostáticos, (3) la catálisis acidobásica y (4) la catálisis covalente. Cada factor se describirá brevemente.

EFECTOS DE PROXIMIDAD Y TENSIÓN Para que tenga lugar una reacción bioquímica el sustrato debe acercarse a los grupos funcionales catalíticos (grupos de las cadenas laterales que participan en un mecanismo catalítico) dentro

del lugar activo. Además, el sustrato debe orientarse de forma precisa hacia los grupos catalíticos. Una vez situado el sustrato correctamente, un cambio de la conformación enzimática puede dar lugar a un complejo enzima-sustrato tensado. La tensión ayuda a llevar al complejo enzima-sustrato al estado de transición. En general, cuanto más fuerte puede unir el lugar activo al sustrato mientras éste está en su estado de transición, mayor es la velocidad de la reacción. Cuando una enzima y el sustrato están muy próximos se comportan como si fueran parte de la misma molécula. Las velocidades de las reacciones intramoleculares son mucho mayores que las de las reacciones intermoleculares, en las que la difusión del sustrato reduce el tiempo que se emplea en el estado de transición y hace más lenta la reacción.

EFECTOS ELECTROSTÁTICOS Recuerde que la fuerza de las interacciones electrostáticas está relacionada con la capacidad de las moléculas de disolvente de los alrededores para reducir las fuerzas de atracción entre los grupos químicos (Capítulo 3). Debido a que el agua al unirse el sustrato está en gran medida excluido del lugar activo la constante dieléctrica local suele ser baja. La distribución de carga en el lugar activo relativamente anhidro puede influir sobre la reactividad química del sustrato. Además, se supone que a la catálisis contribuyen las interacciones electrostáticas débiles, como aquellas entre dipolos permanentes e inducidos en el lugar activo y en el sustrato. Una unión más eficaz del sustrato disminuye la energía libre del estado de transición, lo cual acelera la reacción.

CATÁLISIS ACIDOBÁSICA Los grupos químicos pueden hacerse más reactivos añadiendo o eliminando un protón. Los lugares activos de las enzimas contienen grupos de las cadenas laterales que actúan como donadores o aceptores de protones. Estos grupos se denominan ácidos generales o bases generales. (Los *ácidos generales* y *las bases generales* son sustancias que pueden liberar un protón o aceptar un protón, respectivamente.) Por ejemplo, la cadena lateral de la histidina (que se denomina grupo imidazol) con frecuencia participa en la catálisis acidobásica concertada debido a que su intervalo de pK_a es cercano al pH fisiológico. El anillo imidazol protonado puede servir como ácido general y el anillo imidazol desprotonado puede servir como base general:

La transferencia de protones es una característica común de las reacciones químicas. Por ejemplo, considere la hidrólisis de un éster:

$$R{-}\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}{-}O{-}R' + H_2O \longrightarrow R{-}\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}{-}OH + R'{-}OH$$

Debido a que el agua es un nucleófilo débil, la hidrólisis de un éster es relativamente lenta en disolución neutra. La hidrólisis del éster tiene lugar mucho más rápidamente si aumenta el pH. Al atacar el ion hidróxido el átomo de carbono polarizado

(a) Catálisis por ion hidróxido

(b) Catálisis por una base general

(c) Catálisis por un ácido general

FIGURA 6-14

Hidrólisis de un éster.

Los ésteres pueden hidrolizarse de varias formas: (a) catálisis por ion hidróxido libre, (b) catálisis por base general y (c) catálisis por ácido general. Una flecha coloreada representa el movimiento de un par de electrones durante cada mecanismo.

del grupo carbonilo (Fig. 6.14a), se forma un intermediario tetrahédrico. Al degradarse el intermediario, se transfiere un protón desde una molécula de agua cercana. La reacción se completa cuando se libera el alcohol. Sin embargo, la catálisis por el ion hidróxido no es práctica en los seres vivos. Las enzimas utilizan varios grupos funcionales que se comportan como bases generales para transferir eficazmente protones. Estos grupos pueden colocarse de forma precisa con relación al sustrato (Fig. 6.14b). La hidrólisis del éster puede también ser catalizada por un ácido general (Fig. 6.14c). Al unirse el oxígeno del grupo carbonilo del éster al protón, el átomo de carbono se hace más positivo. Entonces el éster se hace más susceptible al ataque nucleófilo por una molécula de agua.

CATÁLISIS COVALENTE En algunas enzimas un grupo nucleófilo de una cadena lateral forma un enlace covalente inestable con el sustrato. El complejo enzima-sustrato forma entonces el producto. Una clase de enzimas denominada **serina proteasas** utilizan el grupo $-CH_2-OH$ de la serina como nucleófilo para hidrolizar los enlaces peptídicos. (Entre los ejemplos de serina proteasas se encuentran las

enzimas digestivas tripsina y quimotripsina, y la enzima de la coagulación de la sangre trombina). Durante el primer paso, el nucleófilo ataca al grupo carbonilo. Al formarse el enlace éster, se rompe el enlace peptídico. El intermediario acil-enzima resultante es hidrolizado por el agua en una segunda reacción:

$R-C(=O)-NH-R' + Enzima-CH_2OH$

Paso 1 ($\downarrow$ $R'-NH_2$)

$R-C(=O)-O-CH_2-Enzima$

Paso 2 (H_2O $\downarrow$)

$R-C(=O)-OH + Enzima-CH_2OH$

Otras cadenas laterales de aminoácidos pueden actuar como nucleófilos. El grupo sulfhidrilo de la cisteína, los grupos carboxilato de aspartato y glutamato, y el grupo imidazol de la histidina pueden realizar esta función.

Varios cationes metálicos y coenzimas también colaboran en la catálisis. A continuación se describe su papel en la facilitación de la función enzimática.

PREGUNTA 6.6 Revise las estructuras de los aminoácidos estándar de las proteínas. ¿Cuáles piensa que pueden participar en las reacciones acidobásicas?

Función de los cofactores en la catálisis enzimática

Las cadenas laterales de los aminoácidos del lugar activo son las responsables principales de catalizar las transferencias de protones en las sustituciones nucleófilas. Para catalizar otras reacciones, las enzimas requieren cofactores no proteicos, es decir, cationes metálicos y coenzimas. Se presentan las propiedades estructurales y las reactividades químicas de cada grupo.

METALES Los metales importantes en los seres vivos son de dos clases: metales de transición (p. ej., Fe^{2+} y Cu^{2+}) y metales alcalinos y alcalinotérreos (p. ej., Na^+, K^+, Mg^{2+} y Ca^{2+}). Debido a sus estructuras electrónicas, los metales de transición suelen participar en la catálisis. Aunque tienen funciones importantes en los seres vivos, los metales alcalinos y alcalinotérreos con poca frecuencia forman complejos fuertes con las proteínas. Estas consideraciones están, por lo tanto, referidas a las propiedades de los metales de transición.

Varias propiedades de los metales de transición los hacen útiles en la catálisis. Los iones metálicos proporcionan una concentración elevada de cargas positivas que es especialmente útil para la unión de las moléculas pequeñas. Debido a que los metales de transición actúan como *ácidos de Lewis* (aceptores de pares electrónicos), son eficaces electrófilos. (Las cadenas laterales de los aminoácidos son malas electrófilas debido a que no pueden aceptar pares de electrones sin compartir.) Debido a que sus valencias dirigidas les permiten interaccionar con dos o más ligandos, los iones metálicos ayudan al sustrato a orientarse dentro del lugar activo. Como consecuencia, el complejo sustrato-ion metálico polariza al sustrato y estimula la catálisis. Por ejemplo, cuando el cofactor Zn^{2+} de la anhidrasa carbónica polariza

una molécula de agua, se forma un grupo Zn^{2+}-OH unido. El grupo OH (que actúa como nucleófilo) ataca al CO_2 y lo convierte en HCO_3^-:

$$\text{Enzima—}Zn^{2+} + H_2O \rightleftharpoons \text{Enzima—}Zn^{2+}\cdots{}^{-}OH + H^+$$

$$\text{Enzima—}Zn^{2+}\cdots{}^{-}OH + H^+ + O{=}C{=}O \rightleftharpoons \text{Enzima—}Zn^{2+}\cdots O(H){-}C({=}O){-}OH$$

$$\rightleftharpoons \text{Enzima—}Zn^{2+} + H_2CO_3 \rightleftharpoons \text{Enzima—}Zn^{2+} + HCO_3^- + H^+$$

Finalmente, debido a que los metales de transición tienen dos o más estados de valencia, pueden actuar como mediadores en las reacciones de oxidación-reducción. Por ejemplo, la oxidación reversible del Fe^{2+} para formar Fe^{3+} es importante en la función del citocromo P_{450}. El citocromo P_{450} es una enzima microsómica que se encuentra en los animales que procesan sustancias tóxicas (Capítulo 10).

PREGUNTA 6.7

El cobre es un cofactor de varias enzimas, entre ellas la lisil oxidasa y la superóxido dismutasa. La ceruloplasmina, una glucoproteína azul oscura, es la principal proteína de la sangre que contiene cobre. Se utiliza para transportar Cu^{2+} y mantener concentraciones adecuadas de Cu^{2+} en los tejidos corporales. La ceruloplasmina cataliza también la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+}, una reacción importante del metabolismo del hierro. Debido a que el metal se encuentra con abundancia en los alimentos, la deficiencia de cobre es poco frecuente en el ser humano. Los síntomas de la deficiencia son anemia, leucocitopenia (reducción de la concentración de leucocitos en sangre), defectos óseos y debilidad de las paredes arteriales. El cuerpo está protegido en parte de la exposición a una cantidad excesiva de cobre (y otros metales) por la metalotioneína, una proteína pequeña que une metales y que posee una gran proporción de residuos de cisteína. Determinados metales (principalmente cinc y cadmio) inducen la síntesis de metalotioneína en el intestino y el hígado.

En el *síndrome de Menkes*, la absorción intestinal de cobre es deficiente. ¿Cómo pueden tratarse los niños afectados para evitar los síntomas de la enfermedad, que incluyen convulsiones, retraso del crecimiento y pelo quebradizo?

En otra enfermedad hereditaria poco frecuente, denominada *enfermedad de Wilson*, en el tejido hepático y cerebral se acumulan cantidades excesivas de cobre. Un síntoma destacado de la enfermedad es el depósito de cobre en capas verdosas rodeando la córnea, denominadas anillos de Kayser-Fleischer. La enfermedad de Wilson está producida por el defecto en una proteína dependiente de ATP que transporta cobre a través de las membranas celulares. Aparentemente, se requiere la proteína transportadora de cobre para incorporar el cobre a la ceruloplasmina y eliminar el exceso de cobre. La enfermedad de Wilson se trata, además de con una alimentación pobre en cobre, con sulfato de cinc y el agente quelante penicilamina (pág. 123). Describa como actúan estos tratamientos. (*Pista*: La metalotioneína tiene una mayor afinidad por el cobre que por el cinc.)

COENZIMAS La mayoría de las coenzimas derivan de las vitaminas. Las **vitaminas** (nutrientes orgánicos que se requieren en cantidades pequeñas en la alimentación del ser humano) se dividen en dos clases: hidrosolubles y liposolubles. Además,

CUADRO 6-3
Vitaminas y sus formas coenzimáticas

Vitamina	Forma coenzimática	Reacción o proceso estimulado
Vitaminas hidrosolubles		
Tiamina (B_1)	Tiamina pirofosfato	Descarboxilación, transferencia de grupo aldehído
Riboflavina (B_2)	FAD y FMN	Redox
Piridoxina (B_6)	Piridoxal fosfato	Transferencia de grupos amino
Ácido nicotínico (niacina)	NAD y NADP	Redox
Ácido pantoténico	Coenzima A	Transferencia de acilo
Biotina	Biocitina	Carboxilación
Ácido fólico	Ácido tetrahidrofólico	Transferencia de grupos de un carbono
Vitamina B_{12}	Desoxiadenosilcobalamina, metilcobalamina	Reagrupamientos intramoleculares
Ácido ascórbico (vitamina C)	Desconocida	Hidroxilación
Vitaminas liposolubles		
Vitamina A	Retinal	Visión, crecimiento y reproducción
Vitamina D	1,25-Dihidroxicolecalciferol	Metabolismo del calcio y del fosfato
Vitamina E	Desconocida	Antioxidante lipídico
Vitamina K	Desconocida	Coagulación de la sangre

existen determinados nutrientes semejantes a las vitaminas (p. ej., ácido lipoico, carnitina y ácido *p*-aminobenzoico) que pueden sintetizarse en pequeñas cantidades y que facilitan los procesos catalizados por las enzimas. En el Cuadro 6.3 se da una lista de las vitaminas, sus formas coenzimáticas y las reacciones que estimulan. En este capítulo se describen la estructura y función de las formas coenzimáticas del ácido nicotínico (niacina) y la riboflavina. En los Capítulos 10, 12, 14 y 15 se consideran las otras coenzimas y los nutrientes semejantes a las vitaminas.

Existen dos formas coenzimáticas del ácido nicotínico: el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) y el dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato (NADP). Estas coenzimas se encuentran en sus formas oxidadas (NAD^+ y $NADP^+$) y sus formas reducidas (NADH y NADPH). Las estructuras del NAD^+ y del $NADP^+$ contienen adenosina y el derivado N-ribosilo de la nicotinamida, que están unidos a través de un grupo pirofosfato (Fig. 6.15a). El $NADP^+$ posee otro fosfato más unido al grupo 2′—OH de la adenosina. (En un nucleótido, los átomos del anillo del azúcar se designan con una prima para diferenciarlos de los átomos de la base.) Tanto el NAD^+ como el $NADP^+$ transportan electrones para varias enzimas de un grupo denominado deshidrogenasas. (Las deshidrogenasas catalizan reacciones de transferencia de hidruro ($H:^-$). Muchas deshidrogenasas que catalizan reacciones implicadas en la generación de energía utilizan la coenzima NADH. Las enzimas que requieren NADPH normalmente catalizan reacciones de biosíntesis. Un número pequeño de deshidrogenasas pueden utilizar NADH o NADPH.)

La alcohol deshidrogenasa cataliza la oxidación reversible del etanol para formar acetaldehído:

$$CH_3—CH_2—OH + NAD^+ \rightleftharpoons CH_3—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—H + NADH + H^+$$

Durante esta reacción, el NAD^+ acepta un ion hidruro (un protón sin electrones) del etanol, la molécula de sustrato que va a sufrir la oxidación. Obsérvese que se eliminan de las moléculas de sustrato el equivalente a dos átomos de hidrógeno, de

Catalisis

Nicotinamida

NAD^+ o $NADP^+$

(a)

Reducción

Oxidación

NAD^+ + H^+ + $2e^-$ ⇌ NADH

(b)

FIGURA 6-15

Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD).

(a) Nicotinamida y $NAD(P)^+$. (b) Reducción reversible del NAD^+ a NADH. Para simplificar la ecuación sólo se muestra el anillo de nicotinamida. El resto de la molécula se designa por R.

forma que se produce un H^+, además del ion hidruro. La reducción reversible del NAD^+ se explica en la Figura 6.15b.

En la mayoría de las reacciones catalizadas por deshidrogenasas, el NAD^+ (o $NADP^+$) sólo está unido de manera transitoria a la enzima. Tras liberarse de la enzima la versión reducida de la coenzima, dona el ion hidruro a otra molécula, denominada *aceptor electrónico*. El enlace de energía elevada entre el hidrógeno y el anillo de nicotinamida proporciona la energía para la transferencia del ion hidruro mediada por la enzima.

La riboflavina (vitamina B_2) es un componente de dos coenzimas: mononucleótido de flavina (FMN) y dinucleótido de flavina y adenina (FAD) (Fig. 6.16). El FMN y el FAD actúan como grupos prostéticos firmemente unidos en una clase de enzimas denominadas **flavoproteínas**. Las flavoproteínas son un grupo diverso de catalizadores, que actúan como deshidrogenasas, oxidasas e hidroxilasas. Estas enzimas, que catalizan reacciones de oxidación-reducción, utilizan el grupo isoaloxacina del FAD o el FMN como donador o aceptor de dos átomos de hidrógeno. La succinato deshidrogenasa es un ejemplo destacado de flavoproteína. Cataliza la oxidación del succinato para formar fumarato, una reacción importante en la producción de energía.

CONCEPTOS CLAVE 6.5

Las cadenas laterales de los aminoácidos del lugar activo de las enzimas catalizan transferencias de protones y sustituciones nucleófilas. Otras reacciones requieren grupos o cofactores no proteicos, es decir, cationes metálicos y coenzimas. Los iones metálicos son electrófilos eficaces y ayudan a orientarse al sustrato dentro del lugar activo. Además, determinados cationes metálicos participan en las reacciones redox. Las coenzimas son moléculas orgánicas que tienen diversas funciones en la catálisis enzimática.

Riboflavina

(a)

FAD

FMN

Adenina

(b)

FAD o FMN

$+ 2 H^+ + 2e^-$

$FADH_2$ o $FMNH_2$

(c)

FIGURA 6-16

Coenzimas de flavina

(a) Vitamina riboflavina. (b) FAD y FMN. (c) Reducción reversible de las coenzimas de flavina. Para simplificar la ecuación sólo se muestra el anillo de isoaloxazina. El resto de la coenzima se designa por R.

PREGUNTA 6.8

Identifique cada uno de los siguientes compuestos como cofactor, coenzima, apoenzima u holoenzima:

a. Zn^{2+}
b. alcohol deshidrogenasa activa
c. alcohol deshidrogenasa que carece de Zn^{2+}
d. FMN
e. NAD^+.

Efectos de la temperatura y del pH sobre las reacciones catalizadas por las enzimas

Cualquier factor ambiental que distorsione la estructura proteica puede alterar la actividad enzimática. Las enzimas son especialmente sensibles a las variaciones de la temperatura y del pH.

TEMPERATURA La temperatura afecta a todas las reacciones químicas. Cuanto mayor es la temperatura, mayor es la velocidad de reacción. La velocidad de reacción aumenta debido a que hay más moléculas con la energía suficiente para entrar en el estado de transición. Las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas aumentan también al incrementarse la temperatura. Sin embargo, las enzimas son proteínas que se desnaturalizan a temperaturas elevadas. Cada enzima tiene una *temperatura óptima* a la que actúa con su máxima eficacia (Fig. 6.17). Debido a que las enzimas son proteínas, los valores de temperatura óptima dependen del pH y de la fuerza iónica. Si la temperatura se incrementa más allá de la temperatura óptima, la actividad enzimática desciende bruscamente. La temperatura óptima de una enzima normalmente está cerca de la temperatura normal del organismo del que procede. Por ejemplo, la temperatura óptima de la mayoría de las enzimas del ser humano está próxima a los 37 °C.

PH La concentración de ion hidrógeno afecta a las enzimas de diversas formas. En primer lugar, la actividad catalítica está relacionada con el estado iónico del lugar activo. Las variaciones de la concentración de ion hidrógeno pueden afectar a la ionización de los grupos del lugar activo. Por ejemplo, la actividad catalítica de una determinada enzima requiere la forma protonada del grupo amino de una cadena lateral. Si el pH es lo suficientemente alcalino para que el grupo pierda su protón, la actividad enzimática puede deprimirse. Además, los sustratos pueden afectar también a la actividad enzimática. Si un sustrato contiene un grupo ionizable, un cambio del pH puede alterar su capacidad para unirse al lugar activo. En segundo lugar, los cambios de los grupos ionizables pueden alterar la estructura terciaria de la enzima. Los cambios drásticos del pH frecuentemente conducen a la desnaturalización.

Aunque unas pocas enzimas toleran cambios importantes de pH, la mayoría de las enzimas son activas dentro de un intervalo estrecho de pH. Por esta razón, los seres vivos emplean amortiguadores para regular estrechamente el pH. El valor de pH al que la actividad de una enzima es máxima se denomina **pH óptimo** (Fig. 6.18). Los pH óptimos de las enzimas varían considerablemente. Por ejemplo, el pH óptimo de la pepsina, una enzima proteolítica que se produce en el estómago, es aproximadamente de 2. Para la quimotripsina, que digiere las proteínas en el intestino delgado, el pH óptimo es de aproximadamente 8.

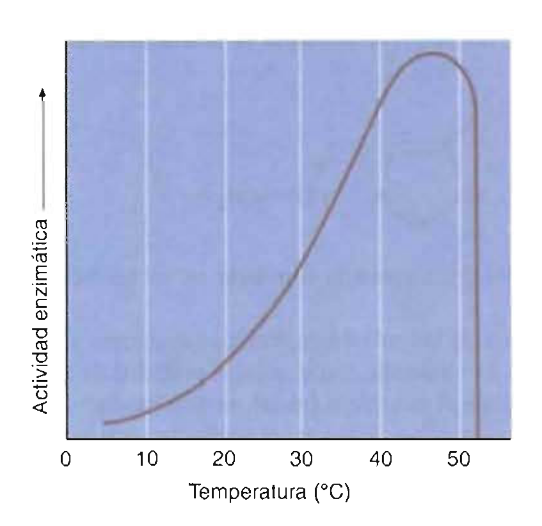


FIGURA 6-17

Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

Un modesto aumento de la temperatura aumenta la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas debido a un incremento del número de colisiones entre la enzima y el sustrato. Finalmente, el aumento de la temperatura disminuye la velocidad de reacción. La actividad catalítica se pierde debido a que el calor desnaturaliza a la enzima.

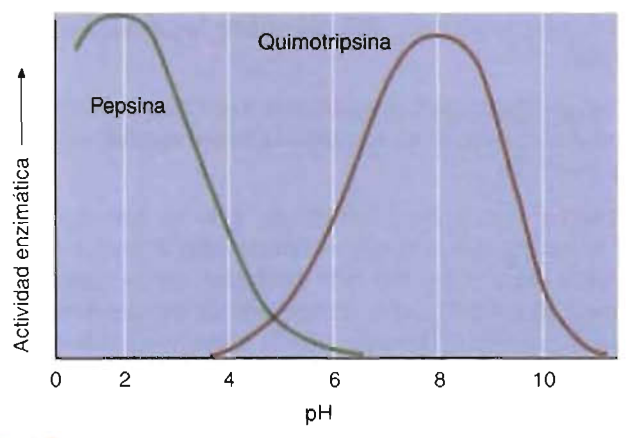


FIGURA 6-18

Efecto del pH sobre dos enzimas.

Cada enzima posee un determinado pH al que es más activa. Un cambio del pH puede alterar los grupos ionizables dentro del lugar activo o afectar la conformación de la enzima.

Mecanismos detallados de la catálisis enzimática

Se han estudiado más de 2000 enzimas, cada una de las cuales posee una estructura, una especificidad de sustrato y un mecanismo de reacción únicos. Cada mecanismo de reacción está afectado por los factores estimulantes de la catálisis de la temperatura y del pH. Durante las pasadas décadas se han investigado profundamente los mecanismos de diversas enzimas. A continuación se dan los mecanismos catalíticos de dos enzimas bien caracterizadas.

QUIMOTRIPSINA La quimotripsina es una proteína de 27 000 D que pertenece a las serina proteasas. Los lugares activos de todas las serina proteasas contienen un conjunto característico de residuos de aminoácido. En la quimotripsina son His 57, Asp 102 y Ser 195. Los estudios de la enzima cristalizada unida a análogos de sustrato han descubierto que en el lugar activo estos residuos están cerca unos de otros. El residuo de serina del lugar activo desempeña un papel especialmente importante en los mecanismos catalíticos de este grupo de enzimas. Las serina proteasas se inhiben de forma irreversible por el diisopropilfluorofosfato (DFP). En las enzimas inhibidas por el DFP, el inhibidor está unido de forma covalente sólo a la Ser 195 y no a ninguna de las otras 29 serinas. La reactividad especial de la Ser 195 se atribuye a la proximidad de la His 57 y del Asp 102. El anillo imidazol de la His 57 se encuentra entre el grupo carboxilo del Asp 102 y el grupo $-CH_2OH$ de la Ser 195. El grupo carboxilo del Asp 102 polariza a la His 57, permitiéndolo de esta manera actuar como una base general (es decir, se fomenta la abstracción de un protón por el grupo imidazol):

$$-CH_2-\overset{\overset{\large O}{\|}}{C}-O^- \cdot\cdot\cdot\cdot\ HN\quad N\!:\quad HO-CH_2-$$

La eliminación del protón del grupo OH de la serina la convierte en un nucleófilo más eficaz.

La quimotripsina cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos adyacentes a los aminoácidos aromáticos. En la Figura 6.19 se detalla el mecanismo probable de esta reacción. El Paso (a) de la figura muestra el complejo inicial enzima-sustrato. El Asp 102, la His 57 y la Ser 195 están alineados. Además, el anillo aromático del residuo de fenilalanina del sustrato está asentado en un bolsillo de unión hidrófobo, y el enlace peptídico del sustrato tiene un enlace de hidrógeno con los grupos NH

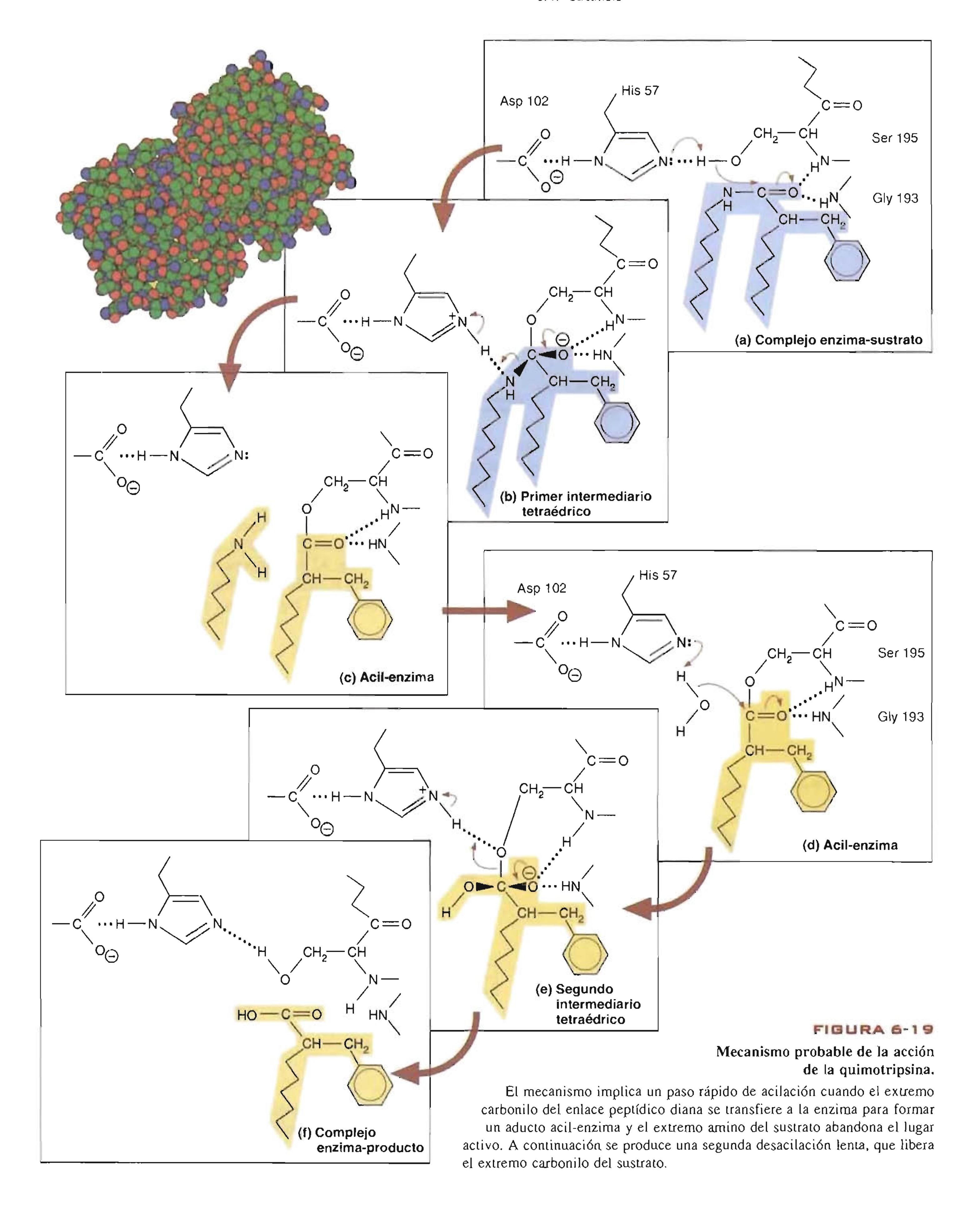


FIGURA 6-19

Mecanismo probable de la acción de la quimotripsina.

El mecanismo implica un paso rápido de acilación cuando el extremo carbonilo del enlace peptídico diana se transfiere a la enzima para formar un aducto acil-enzima y el extremo amino del sustrato abandona el lugar activo. A continuación se produce una segunda desacilación lenta, que libera el extremo carbonilo del sustrato.

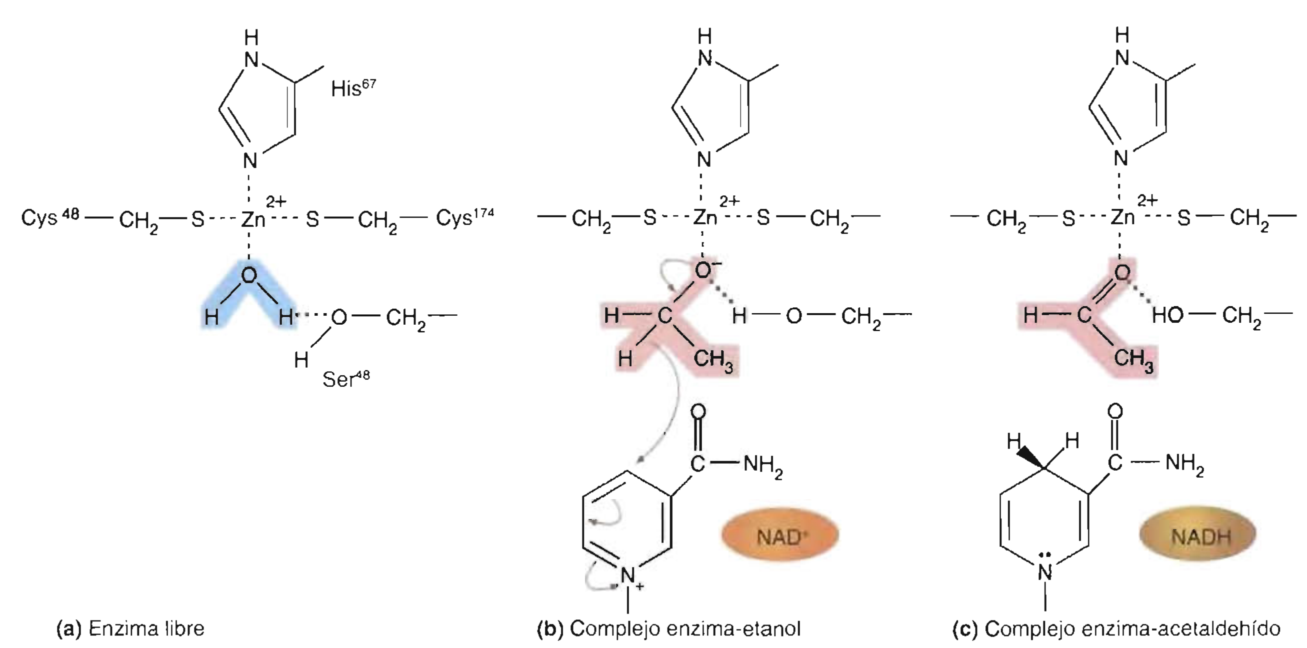
amida de la Ser 195 y la Gly 193. El oxígeno del hidroxilo nucleófilo de la Ser 195 desencadena un ataque nucleófilo sobre el carbono carbonilo del sustrato. El **oxianión**, que se forma al moverse la carga negativa hacia el oxígeno del carbonilo, está estabilizado por enlaces de hidrógeno con el NH amida de la Ser 195 y la Gly 193. El intermediario tetraédrico, que se muestra en el Paso (b), se descompone para formar el intermediario acil-enzima unido covalentemente (Paso c). La His 57, actuando como ácido general, se cree que facilita esta descomposición. En los Pasos (d) y (e), se invierten los dos pasos previos. Con el agua actuando como nucleófilo atacante, se forma un intermediario tetraédrico (oxianión). En el Paso (f) (el complejo final enzima-producto) se ha roto el enlace entre el oxígeno de la serina y el carbono carbonilo. La serina vuelve a formar un enlace de hidrógeno con la His 57.

ALCOHOL DESHIDROGENASA Recuerde que la alcohol deshidrogenasa, una enzima que se encuentra en la mayoría de las células eucariotas (p. ej., hígado de los animales, hojas de las plantas y levaduras), cataliza la oxidación reversible de un alcohol para formar un aldehído:

$$CH_3—CH_2—OH + NAD^+ \rightleftharpoons CH_3—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—H + NADH + H^+$$

En esta reacción, en la que se eliminan dos electrones y dos protones, la coenzima NAD actúa como aceptor electrónico.

El lugar activo de la alcohol deshidrogenasa contiene dos residuos de cisteína (Cys 48 y Cys 174) y un residuo de histidina (His 67), todos ellos coordinados con un ion Zn (Fig. 6.20). Tras la unión del NAD^+ al lugar activo, entra el sustrato etanol y se une al Zn^{2+} como anión alcoholato (Fig. 6.20b). El efecto electrostático del Zn^{2+} estabiliza el estado de transición. Al descomponerse el intermediario, se transfiere el ion hidruro desde el sustrato al anillo de nicotinamida del NAD^+ (Fig. 6.20c). Tras liberarse el producto aldehído del lugar activo, el NADH también se disocia.



(a) Enzima libre (b) Complejo enzima-etanol (c) Complejo enzima-acetaldehído

FIGURA 6-20

Grupos funcionales del lugar activo de la alcohol deshidrogenasa.

(a) Sin el sustrato, una molécula de agua es uno de los ligandos del ion Zn^{2+}. (b) El etanol sustrato probablemente se une al Zn^{2+} como anión alcoholato, desplazando a la molécula de agua. (c) El NAD^+ acepta un ion hidruro del sustrato y se forma el producto aldehído.

6.5 REGULACIÓN ENZIMÁTICA

Las miles de reacciones químicas de las células catalizadas por enzimas están organizadas en diversas *rutas bioquímicas* (o *metabólicas*). Cada ruta consta de una secuencia de pasos catalíticos. El producto de la primera reacción es el sustrato de la siguientes, y así sucesivamente. El número de reacciones varía de una ruta a otra. Por ejemplo, los animales forman glutamina a partir de α-cetoglutarato en una ruta que tiene dos pasos secuenciales, mientras que la síntesis de triptófano por *Escherichia coli* requiere 13 pasos. Frecuentemente, las rutas bioquímicas tienen puntos de ramificación. Por ejemplo, el corismato, un intermediario de la biosíntesis del triptófano, es también precursor de la fenilalanina y la tirosina.

Los seres vivos han producido mecanismos sofisticados para regular las rutas bioquímicas. La regulación es esencial por varias razones:

1. **Mantenimiento de un estado ordenado**. La regulación de cada ruta da lugar a la producción de las sustancias que se requieren para mantener la estructura y función de la célula de una forma conveniente y sin desperdiciar los recursos.
2. **Conservación de la energía**. Las células controlan constantemente las reacciones que generan energía, de forma que consumen los nutrientes suficientes para satisfacer sus requerimientos energéticos.
3. **Respuesta a las variaciones ambientales**. Las células pueden realizar ajustes relativamente rápidos de las variaciones de temperatura, pH, fuerza iónica y concentración de nutrientes debido a que pueden aumentar o disminuir las velocidades de reacciones específicas.

La regulación de las rutas bioquímicas es compleja. Se consigue principalmente ajustando las concentraciones y las actividades de determinadas enzimas. El control se realiza por: (1) control genético, (2) modificación covalente, (3) regulación alostérica y (4) compartimentalización.

CONCEPTOS CLAVE 6.6

Cada enzima posee una estructura, especificidad de sustrato y mecanismo de reacción únicos. Cada mecanismo está afectado por factores promotores de la catálisis que están determinados por la estructura del sustrato y el lugar activo de la enzima.



Control genético

La síntesis de las enzimas como respuesta a las variaciones de las necesidades metabólicas, un proceso que se denomina **inducción enzimática**, permite a las células responder de forma eficaz a las variaciones del ambiente. Por ejemplo, las células de *E. coli* que crecen sin el azúcar lactosa no pueden metabolizar inicialmente este nutriente cuando se introduce en el medio de crecimiento de la bacteria. Tras su introducción en ausencia de glucosa, se activan los genes que codifican las enzimas necesarias para utilizar la lactosa como fuente de energía. Tras consumirse toda la lactosa, finaliza la síntesis de estas enzimas.

La síntesis de determinadas enzimas también puede inhibirse de forma específica. En un proceso que se denomina *represión*, el producto final de una ruta metabólica puede inhibir la síntesis de una enzima clave de la ruta. Por ejemplo, en *E. coli* el producto de algunas rutas de síntesis de aminoácidos regula la síntesis de enzimas clave. En el Capítulo 18 se considera el mecanismo de esta forma de control metabólico.

Modificación covalente

Algunas enzimas se regulan por la interconversión reversible entre sus formas activa e inactiva. Estos cambios de la función están producidos por diversas modificaciones covalentes. Muchas de estas enzimas poseen residuos específicos que pueden estar fosforilados y desfosforilados. Por ejemplo, la glucógeno fosforilasa (Capítulo 8) cataliza la primera reacción de la degradación de glucógeno, un hidrato de carbono que almacena energía. En un proceso controlado por hormonas, la forma inactiva de la enzima (glucógeno fosforilasa b) se convierte en la forma activa (glucógeno fosforilasa a) por la adición de un grupo fosfato a un residuo específico de serina. Otros tipos de modificación covalente reversible son la metilación, la acetilación y la nucleotidilación (la adición covalente de un nucleótido).

Varias enzimas se sintetizan y almacenan en forma de precursores inactivos denominados **proenzimas** o **zimógenos**. Los zimógenos se convierten en las enzimas activas por la rotura irreversible de uno o varios enlaces peptídicos. Por ejemplo, el quimotripsinógeno se produce en el páncreas. Tras segregarse al intestino delgado, se convierte mediante varios pasos en su forma activa (Fig. 6.21). Inicialmente, la tripsina (otra enzima proteolítica) rompe el enlace peptídico entre Arg 15 e Ile 16. Posteriormente, la quimotripsina rompe otros enlaces peptídicos, creando la enzima catalíticamente activa que participa en la digestión de las proteínas del alimento. Otras enzimas que se activan por una proteólisis parcial son la pepsina, la tripsina, la elastasa, la colagenasa, y la enzima de la coagulación de la sangre, trombina.

Regulación alostérica

En cada ruta bioquímica hay una o varias enzimas cuya actividad catalítica puede modularse en respuesta a las necesidades celulares. Estas **enzimas reguladoras** normalmente catalizan el primer paso de la ruta. Otro punto característico de control es el primer paso de una ramificación en una ruta que conduce a un producto alternativo. Existen dos estrategias principales para controlar las enzimas reguladoras: la modificación covalente y la regulación alostérica. Debe tenerse en cuenta que el control de los procesos metabólicos es complejo. No existen reglas sencillas que expliquen todos los aspectos de la regulación de las rutas metabólicas. Normalmente han fracasado los intentos para aumentar la marcha de rutas como la glucólisis en bacterias modificadas mediante un incremento de las concentraciones de las enzimas reguladoras específicas. Se ha observado que en algunas circunstancias se requiere el aumento de la síntesis de todas las enzimas de una ruta para lograr un aumento sustancial de la formación del producto.

Las células utilizan la regulación alostérica para responder de forma eficaz a determinadas variaciones de las condiciones intracelulares. Recuerde que las enzimas alostéricas habitualmente están formadas por varios protómeros cuyas propiedades están afectadas por moléculas efectoras. La unión de un efector a una enzima

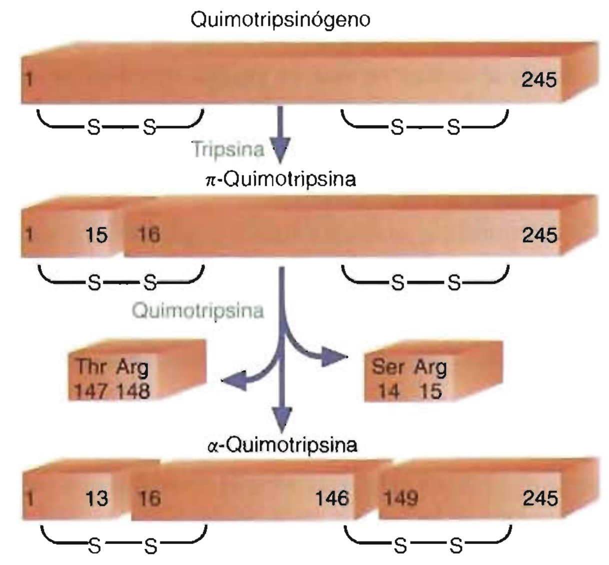


FIGURA 6-21

Activación del quimotripsinógeno.

El zimógeno inactivo quimotripsinógeno se activa en varios pasos. Tras su secreción al intestino delgado, el quimotripsinógeno se convierte en π-quimotripsina cuando la tripsina, otra enzima proteolítica, rompe el enlace peptídico entre Arg 15 e Ile 16. Posteriormente, la quimotripsina rompe otros enlaces peptídicos y diversos cambios conformacionales dan lugar a la formación de α-quimotripsina.

alostérica puede aumentar o disminuir la unión del sustrato a esa enzima. Si los ligandos son idénticos (p. ej., la unión de un sustrato influye sobre la unión de otra molécula de sustrato), entonces los efectos alostéricos se denominan *homotrópicos*. El alosterismo homotrópico se denomina también *cooperatividad*. Los *efectos heterotrópicos* son aquellos en los que intervienen ligandos moduladores, que son diferentes del sustrato.

Los efectos alostéricos pueden ser positivos o negativos. Recuerde que las curvas de unión de las enzimas alostéricas son sigmoideas. La unión de un efector desplaza la curva hacia una actividad mayor o menor, dependiendo de si es un activador o un inhibidor (Fig. 6.22). Por ejemplo, la aspartato transcarbamoilasa (ATCasa) de *E. coli* es una enzima alostérica que cataliza el primer paso de una ruta de reacción que conduce a la síntesis del nucleótido de pirimidina citidina trifosfato (CTP). El CTP actúa como inhibidor de la actividad ATCasa. Éste es un ejemplo de **retroinhibición negativa**, un proceso en el que el producto de una ruta inhibe la actividad de la enzima que marca el ritmo de la ruta (Fig. 6.23). El nucleótido de purina ATP actúa como activador. La activación por ATP de la ATCasa es lógica, debido a que la biosíntesis de los ácidos nucleicos requiere cantidades relativamente iguales de nucleótidos de purina y pirimidina. Cuando la concentración de ATP es mayor que la de CTP, se activa la ATCasa. Cuando la concentración de ATP es menor que la de CTP, el efecto neto sobre la ATCasa es inhibidor. El inhibidor CTP desplaza la curva hacia la derecha, indicando un aumento de la K_m aparente de la ATCasa. El activador ATP desplaza la curva hacia la izquierda, indicando una K_m menor.

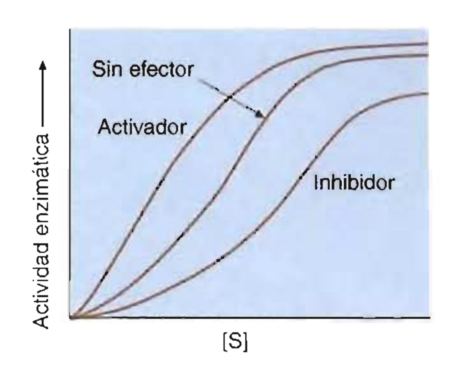


FIGURA 6-22

Velocidad de una reacción catalizada por una enzima en función de la concentración de sustrato.

La actividad de las enzimas alostéricas se afecta por efectores positivos (activadores) e inhibidores negativos.

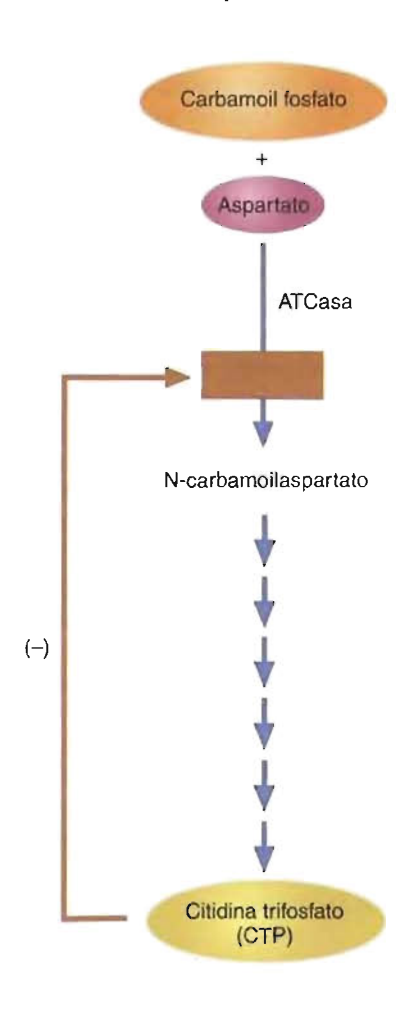


FIGURA 6-23

Retroinhibición.

La ATCasa (aspartato transcarbamoilasa) cataliza el primer paso de la síntesis de CTP. La unión de CTP, el producto de la ruta, a la ATCasa, inhibe la enzima.

Los modelos concertado y secuencial son dos modelos teóricos que intentan explicar el comportamiento de las enzimas alostéricas. En el modelo *concertado* (o *simétrico*), se supone que la enzima sólo existe en dos estados: T (tenso) y R (relajado). Los sustratos y los activadores se unen con mayor facilidad a la conformación R, mientras que los inhibidores favorecen la conformación T. El término *concertado* se aplica a este modelo debido a que las conformaciones de todos los protómeros de la proteína se supone cambian simultáneamente cuando se une el primer efector. (Este cambio concertado rápido de la conformación mantiene la simetría global de la proteína.) La unión de un activador desplaza el equilibrio a favor de la forma R. Un inhibidor desplaza el equilibrio hacia la conformación T.

El comportamiento de la enzima fosfofructoquinasa parece ser consistente con el modelo concertado. La fosfofructoquinasa cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde el ATP al grupo OH del C-1 de la fructosa-6-fosfato.

$$\text{Fructosa-6-fosfato} + \text{ATP} \rightarrow \text{fructosa-1,6-bisfosfato} + \text{ADP}$$

Esta reacción es el punto de control regulador más importante de la glucólisis, una ruta bioquímica importante de generación de energía. La fosfofructoquinasa contiene cuatro subunidades idénticas, cada una de las cuales posee un lugar activo y un lugar alostérico. La enzima se estimula por ADP, AMP y otros metabolitos. Se inhibe por el fosfoenolpiruvato (un intermediario de la glucólisis), el citrato (un intermediario del ciclo del ácido cítrico, una ruta bioquímica relacionada) y el ATP. (El ATP es tanto un sustrato como un inhibidor; es decir, puede unirse tanto al lugar activo como al lugar alostérico.) La unión de los efectores alostéricos altera la velocidad de la glucólisis en respuesta a los cambios de las necesidades energéticas de la célula y la disponibilidad de otros combustibles. Los datos cinéticos sugieren que la fosfofructoquinasa tiene dos conformaciones: T y R. Cuando se une la fructosa-6-fosfato, las cuatro subunidades se convierten de la conformación T a la conformación R.

Aunque el modelo concertado explica varios aspectos de las enzimas alostéricas, tiene ciertas limitaciones. La primera de ellas es que el modelo concertado es demasiado sencillo para explicar el comportamiento complejo de muchas enzimas. Por ejemplo, no puede explicar la **cooperatividad negativa**, un fenómeno que se observa en unas pocas enzimas en las que la unión del primer ligando reduce la afinidad de la enzima por ligandos semejantes. El modelo concertado sólo explica la **cooperatividad positiva**, en la que el primer ligando aumenta la unión consiguiente de otro ligando. Además, el modelo concertado no permite conformaciones híbridas.

En el modelo secuencial, se supone que la proteína es flexible. La unión de un ligando a un protómero en una proteína con varias subunidades produce un cambio de conformación que se transmite a los protómeros adyacentes. El modelo secuencial más sofisticado (Fig. 6.24) permite las conformaciones intermedias que se supone son una situación más real que las conformaciones del modelo concertado más sencillo. También se ha observado la cooperatividad negativa. La unión de un ligando a un protómero puede inducir cambios de conformación en protómeros adyacentes que pueden hacer menos probable la unión del ligando.

Debe recalcarse que los modelos concertado y secuencial son modelos teóricos, es decir, el comportamiento de muchas proteínas alostéricas parece ser más complejo del que explican cualquiera de los dos modelos. Por ejemplo, la unión cooperativa del O_2 a la hemoglobina (la proteína alostérica más estudiada) parece exhibir características de ambos modelos. La unión del primer O_2 inicia una transición concertada T → R que implica pequeños cambios de la conformación de cada subunidad (una característica del modelo secuencial). Además, se han observado especies de hemoglobina con sólo uno o dos O_2 unidos.

Compartimentalización

En los últimos años, ha perdido consistencia la suposición mantenida durante mucho tiempo de que las células son bolsas rodeadas de membranas y llenas de enzimas. Fundamentado en los primeros esfuerzos investigadores que elucidaron las rutas

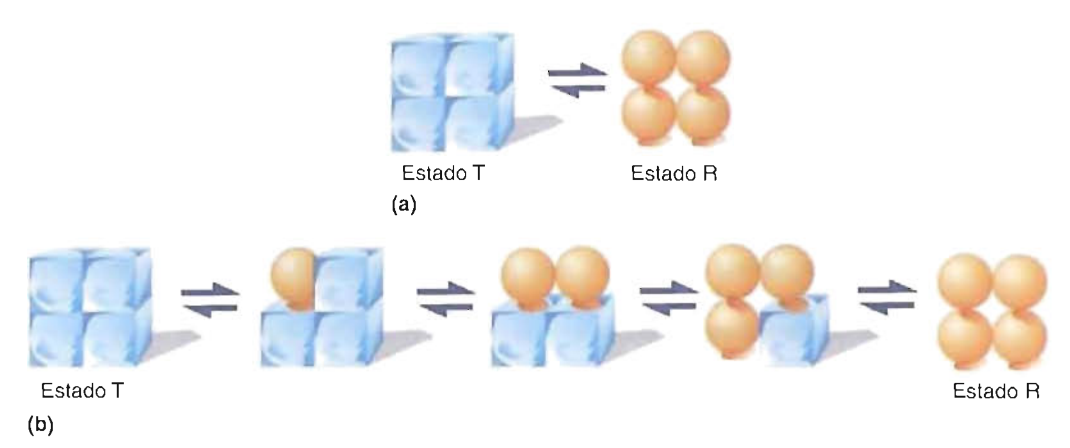


FIGURA 6-24

Modelos de interacción alostérica.

(a) En el modelo concertado, la enzima existe en dos conformaciones. Los sustratos y los activadores poseen una mayor afinidad por el estado R. Los inhibidores favorecen el estado T. (b) En el modelo secuencial, un protómero asume una conformación R al unir el sustrato. Al cambiar su conformación el primer protómero, se afecta la afinidad por el ligando de los protómeros cercanos.

bioquímicas principales, esta premisa era consecuencia, en parte, de la facilidad relativa con la que determinadas enzimas podían aislarse a partir de los extractos de las células homogeneizadas. Aunque algunos científicos continúan considerando que parte del metabolismo es el resultado de las acciones de enzimas independientes dispersas en las fases acuosas o lipídicas de las células, se acepta con más dificultad que las reacciones que pueden demostrarse *in vitro* (en el laboratorio) tienen poco en común con sus correspondientes *in vivo*. Por ejemplo, las concentraciones de sustrato y las velocidades de reacción difieren ampliamente en los dos entornos. De hecho, hay pruebas significativas que indican que en los seres vivos las reacciones bioquímicas sólo tienen lugar en un contexto supramolecular; es decir, es una característica funcional crítica la relación espacial precisa en una ruta de unas enzimas con otras y con los sustratos, las fuentes de energía y los elementos reguladores. La compartimentalización, un mecanismo que utilizan las células para controlar las reacciones bioquímicas, desempeña un papel clave en los procesos metabólicos. En cualquier momento se están produciendo simultáneamente centenares, si no millares, de reacciones químicas diferentes. Muchas de estas reacciones se producen en procesos incompatibles; por ejemplo, la síntesis y degradación de macromoléculas, como las proteínas y los ácidos nucleicos. La separación espacial de enzimas, sustratos y moléculas reguladoras en diferentes regiones o compartimientos permite a las células utilizar eficazmente los recursos relativamente escasos. El confinamiento de determinadas biomoléculas dentro de un compartimiento es crucial para el acoplamiento de reacciones desfavorecidas con reacciones energéticamente favorables. Las células utilizan varias estrategias para compartimentalizar los procesos bioquímicos, que van desde la asociación de moléculas enzimáticas en complejos multiproteicos al uso de compartimientos rodeados por membranas fácilmente identificables.

Los complejos multiproteicos son máquinas moleculares. Utilizados por procariotas y eucariotas, cada tipo de complejo realiza eficazmente una tarea biológica específica. Entre los ejemplos destacados de procesos que requieren el funcionamiento coordinado de un gran número de proteínas asociadas se encuentran la síntesis de DNA, la transcripción, la síntesis de ácidos grasos y la degradación de proteínas. Cada elemento de un complejo multiproteico está situado espacial y temporalmente para que realice una operación específica de forma que pueda producirse una tarea biológica. Además de la catálisis de determinadas reacciones bioquímicas, entre los ejemplos de estas operaciones se encuentran la generación de fuerza por proteínas motoras y la integración del complejo en su posición adecuada en el marco de organización de la célula. Otros constituyentes comunes de los complejos

son subunidades que facilitan la unión de moléculas reguladoras o elementos estructurales celulares (p. ej., componentes específicos de la membrana o el citoesqueleto). En otras palabras, las enzimas catalíticamente competentes son insuficientes para la función adecuada. Cada actividad enzimática debe orientarse de forma que pueda realizar su tarea de una forma adecuada y oportuna.

Dentro de las células eucariotas, la compartimentalización también está facilitada por la segregación de las rutas bioquímicas en orgánulos rodeados por membranas. Además de separar físicamente las rutas opuestas, el uso de un sistema complejo de orgánulos permite hacer máxima la eficacia de los procesos celulares. Recuerde que todas las membranas celulares son semipermeables. Cada clase posee moléculas receptoras y transportadoras que controlan el paso de sustratos, productos y moléculas reguladoras de un compartimiento a otro. El flujo de cada ruta bioquímica puede regularse de forma precisa alterando las velocidades a las que entran y salen esas moléculas. Por ejemplo, la biosíntesis de ácidos grasos se produce en el citoplasma, mientras que las reacciones de la oxidación de los ácidos grasos que generan energía se producen dentro de las mitocondrias. Utilizando hormonas y otros mecanismos, se ejerce el control metabólico sobre el metabolismo de los ácidos grasos regulando el transporte de moléculas específicas (p. ej., ácidos grasos o sus productos de degradación) a través de la membrana mitocondrial. La coordinación estrecha entre los dos procesos evita el desperdicio de energía que produce el solapamiento significativo de la síntesis y degradación de los ácidos grasos. La síntesis neta se produce cuando la energía de la célula es elevada, y la oxidación neta cuando la energía de la célula es baja.

CONCEPTOS CLAVE 6.7

Todas las rutas bioquímicas están reguladas para mantener el estado ordenado de las células. La regulación se realiza mediante control genético, modificación covalente de las enzimas, regulación alostérica y compartimentalización celular.

Otro factor relacionado con la compartimentalización celular es que a veces se crean microambientes especiales dentro de los orgánulos. Por ejemplo, los lisosomas contienen enzimas hidrolíticas que requieren una concentración iónica relativamente elevada para su actividad óptima. (La actividad enzimática lisosómica óptima se produce a pH 5. El pH del citoplasma celular es aproximadamente de 7.2.) Los lisosomas pueden concentrar H^+ debido a que la membrana lisosómica, que es en sí misma impermeable a los H^+, contiene una bomba de H^+ impulsada por la energía.

PREGUNTA 6.9

Los fármacos son sustancias químicas que alteran o potencian los procesos fisiológicos. Por ejemplo, la aspirina suprime el dolor y los antibióticos destruyen a los organismos infecciosos. Una vez que se consume un fármaco, se absorbe y distribuye a los tejidos, donde realiza su función. Finalmente, las moléculas de los fármacos se procesan (principalmente en el hígado) y se eliminan. La dosis de cada fármaco que prescriben los médicos se basa en la cantidad que se requiere para conseguir el efecto terapéutico y la velocidad promedio de eliminación del cuerpo. Varias reacciones preparan a las moléculas de los fármacos para su eliminación. Entre ellas, reacciones de oxidación, reducción y conjugación. (En las reacciones de conjugación, grupos pequeños polares o ionizables se unen a una molécula de fármaco para aumentar su solubilidad.) No es sorprendente que las enzimas desempeñen un papel importante en el metabolismo de los fármacos. La cantidad de determinadas enzimas afecta directamente a la capacidad de un paciente para metabolizar un fármaco específico. Por ejemplo, la isoniazida es un agente antituberculoso. (La tuberculosis es una enfermedad crónica debilitante, muy infecciosa, producida por *Mycobacterium tuberculosis*.) Se metaboliza por N-acetilación. (En la N-acetilación se forma un enlace amida entre el sustrato y un grupo acetilo). La velocidad a la que se acetila la isoniazida determina su eficacia clínica.

Se proporciona la misma dosis de isoniazida a dos pacientes con tuberculosis con pesos corporales y síntomas semejantes. Aunque ambos toman la dosis prescrita, un paciente no presenta mejoría clínica. El otro paciente se cura. Debido a que los factores genéticos parecen ser los responsables de las diferencias del metabolismo de los fármacos, ¿puede sugerir una razón por la que estos pacientes reaccionen de forma tan diferente a la isoniazida? ¿Cómo pueden mejorar los médicos el porcentaje de pacientes que se curan?

Tecnología enzimática: Aplicaciones médicas

Al crecer el conocimiento sobre las enzimas, se ha incrementado su uso para resolver problemas. Los primeros usos de las enzimas fueron en el procesado de los alimentos. Por ejemplo, la renina, una enzima proteolítica que se obtiene de los estómagos de los terneros, se ha utilizado durante miles de años para producir queso. Más recientemente, determinadas enzimas se han convertido en herramientas inestimables en medicina. En 1954 comenzó una nueva era de la medicina cuando los investigadores descubrieron que la aspartato aminotransferasa (ASAT, conocida también como glutamato-oxalacetato transaminasa sérica, SGOT) está elevada en el suero sanguíneo de los pacientes con infarto de miocardio (ataque cardíaco). Un poco después se descubrió que las actividades séricas de ASAT y alanina aminotransferasa (ALAT, conocida también como glutamato-piruvato transaminasa sérica, SGPT) estaban elevadas tras el daño hepático. En los años siguientes, los científicos han investigado docenas de enzimas. La tecnología enzimática actualmente desempeña un papel importante en dos aspectos de la práctica médica: el diagnóstico y el tratamiento. Se describen brevemente ejemplos de cada tipo.

Usos diagnósticos de las enzimas

Las enzimas son útiles en la práctica médica moderna por varias razones. Los análisis enzimáticos proporcionan información importante con relación a la presencia y severidad de una enfermedad. Además, las enzimas suelen proporcionar un medio de seguimiento de la respuesta de un paciente al tratamiento. Las predisposiciones genéticas a determinadas enfermedades pueden determinarse también mediante la medición de actividades enzimáticas específicas.

En el laboratorio clínico, las enzimas se utilizan de dos formas. En primer lugar, la actividad de determinadas enzimas puede medirse directamente. Por ejemplo, la medida de la actividad en sangre de la fosfatasa ácida se utiliza para diagnosticar el cáncer de próstata (un tumor del aparato urinario que se produce en los varones). En segundo lugar, varias enzimas se utilizan como reactivos. Debido a la disponibilidad de las enzimas purificadas, la detección de determinados metabolitos es más exacta y rentable. Por ejemplo, la enzima urato oxidasa se utiliza para medir la concentración en sangre de ácido úrico, un metabolito cuya concentración habitualmente está elevada en los pacientes con gota.

Para poder utilizar una enzima para el diagnóstico, deben cumplirse varias condiciones.

1. **Facilidad de medida.** El análisis enzimático debe ser exacto y conveniente. Para poner a punto un análisis de este tipo hay que determinar las concentraciones saturantes de sustrato y cofactores, así como un buen control de la temperatura y el pH. (Recuerde que en condiciones de orden cero, la velocidad es proporcional a la concentración de la enzima.)
2. **Conveniencia del método para obtener muestras con utilidad clínica.** Se dispone con facilidad de muestras de sangre, orina y, en menor medida, líquido cefalorraquídeo, aunque la sangre que contiene diversas enzimas y metabolitos es la que suele utilizarse para el diagnóstico clínico. Las enzimas se miden utilizando *plasma* sanguíneo (el líquido que permanece tras separar las células sanguíneas) o *suero* sanguíneo (el líquido amarillento que se produce cuando coagula la sangre).

El plasma sanguíneo contiene dos tipos de enzimas. Las enzimas que están en mayores cantidades son específicas del plasma. Entre ellas están las del proceso de coagulación de la sangre (p. ej., trombina y plasmina) y las del metabolismo de las lipoproteínas (Capítulo 12). Las enzimas inespecíficas del plasma no tienen una función fisiológica en el plasma y se encuentran normalmente en cantidades pequeñas. En el recambio normal de las células, se liberan las enzimas intracelulares. Un órgano dañado por una enfermedad o por una lesión puede elevar las enzimas inespecíficas del plasma. Para que el análisis de estas enzimas sea útil, la actividad medida debe ser proporcional al daño. Debido a que pocas enzimas son específicas de un órgano, suele medirse la actividad de varias enzimas. El procedimiento para confirmar un diagnóstico de infarto de miocardio ilustra el uso de las enzimas para el diagnóstico.

Infarto de miocardio

La interrupción del flujo sanguíneo al corazón conduce a la muerte de las células musculares cardíacas. Los síntomas del infarto de miocardio son dolor en el lado izquierdo del tórax que puede radiarse al cuello, el hombro izquierdo y el brazo, y una respiración irregular. El diagnóstico inicial se basa en éstos y otros síntomas. El tratamiento se instaura inmediatamente. Los médicos utilizan varios análisis enzimáticos para confirmar el diagnóstico y para seguir el tratamiento. Las enzimas más utilizadas son la creatina quinasa (CK) y la lactato deshidrogenasa (LDH). Cada actividad enzimática muestra un perfil temporal característico en términos de su liberación por las células musculares cardíacas dañadas y de la velocidad de depuración de la sangre (Fig. 6A).

Deben controlarse las actividades sanguíneas de ambas enzimas. Ninguna concentración enzimática proporciona información suficiente para la duración del tratamiento. Por ejemplo, la CK es la primera enzima que se detecta durante un infarto de miocardio. La concentración de CK en suero aumenta y cae tan rápidamente que es de poca utilidad clínica después de varios días. La LDH, cuya concentración en suero aumenta más tarde, se utiliza para el seguimiento de las últimas fases del daño coronario. El control de la actividad de varias enzimas evita los diagnósticos equivocados. Recuerde que pocas enzimas son específicas de un órgano particular. Hasta hace poco, las actividades séricas de ASAT y ALAT se utilizaban para diferenciar entre

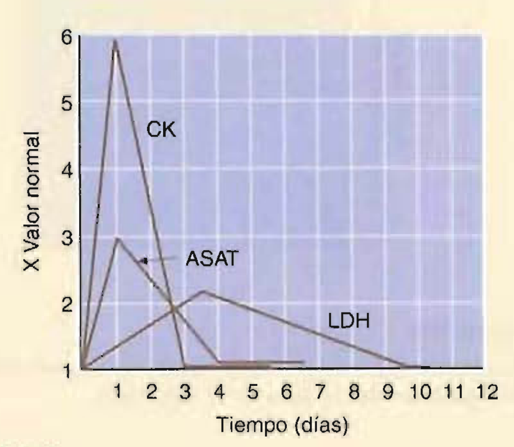


FIGURA 6A

Patrón característico de la concentración en suero de las enzimas cardíacas tras un infarto de miocardio.

lesión coronaria y hepática. (Los cocientes de las actividades de las dos enzimas son diferentes en los dos órganos.) Sin embargo, en la actualidad se considera más fiable una técnica que utiliza las variantes de la CK y la LDH.

Tanto la CK como la LDH se presentan en múltiples formas denominadas isoenzimas. Las **isoenzimas** son formas activas de una enzima con secuencias de aminoácidos ligeramente diferentes. Las isoenzimas pueden diferenciarse entre ellas debido a que migran de forma diferente durante la electroforesis. La CK que se encuentra en forma de dímero tiene dos tipos de protómeros: tipo muscular (M) y tipo cerebral (B). El músculo cardíaco contiene CK_2 (MB) y CK_3 (MM). La isoenzima MB sólo se encuentra en el músculo cardíaco. Su concentración en sangre alcanza un máximo un día después del infarto. La CK_3 (MM), que también se encuentra en otros tejidos, alcanza un pico un día después de la CK_2 (Fig. 6B). La LDH es un tetrámero formado por dos protómeros: tipo cardíaco (H) y tipo muscular (M). Existen cinco isoenzimas diferentes de LDH. La LDH-1 (H_4) y la LDH-2 (H_3M) sólo se encuentran en el músculo cardíaco y los eritrocitos. La LDH-5 (M_4) se encuentra tanto en el hígado como en el músculo esquelético. La LDH-3 y la LDH-4 se encuentran en otros órganos. En la Figura 6C se muestran las diferencias de los patrones de migración de las isoenzimas de LDH de una persona normal y de un paciente con infarto de miocardio. La información generada por las medidas de las actividades en sangre y los patrones de migración tanto de CK como de LDH virtualmente garantizan un diagnóstico correcto.

Uso terapéutico de las enzimas

El uso de las enzimas en los tratamientos médicos ha sido limitado. Cuando se administran a los pacientes, las enzimas frecuentemente se inactivan o degradan. Las cantidades importantes de enzima que suelen requerirse para mantener un tratamiento pueden dar lugar a reacciones alérgicas. Sin embargo, existen varios ejemplos de tratamientos con enzimas que tienen éxito.

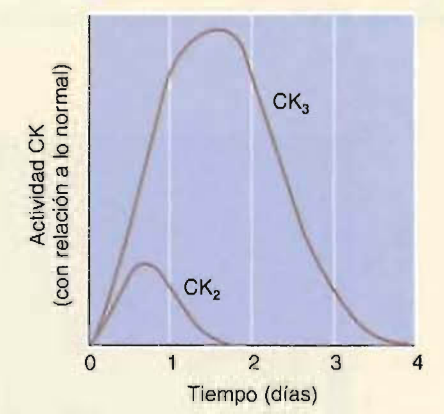
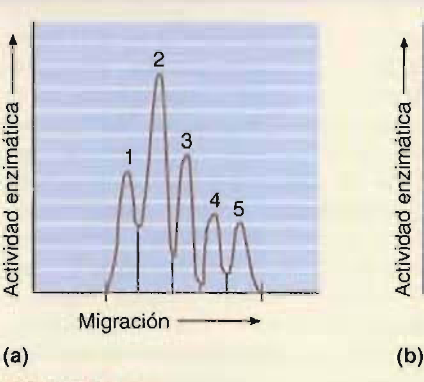


FIGURA 6B

Patrón característico de las concentraciones en suero de la creatina quinasa tras un infarto de miocardio.



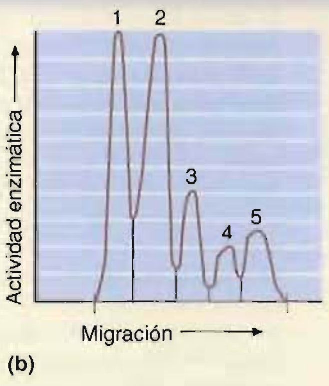


FIGURA 6C

Patrón electroforético de las isoenzimas de lactato deshidrogenasa.

(a) Isoenzimas de LDH de una persona normal. (b) Isoenzimas de LDH de un paciente con infarto de miocardio.

La estreptoquinasa es una enzima proteolítica producida por *Streptococcus pyogenes* (una bacteria que produce infecciones de garganta y de piel). La estreptoquinasa estimula el crecimiento de la bacteria en los tejidos debido a que digiere los coágulos sanguíneos. Actualmente se utiliza con bastante éxito en el tratamiento del infarto de miocardio, que presenta la oclusión de las arterias coronarias. Si se administra pronto tras el comienzo del ataque cardíaco, la estreptoquinasa suele evitar o reducir de forma significativa el daño del corazón. La estreptoquinasa cataliza la conversión del plasminógeno en plasmina, la enzima semejante a la tripsina que digiere la fibrina (el componente principal de los coágulos sanguíneos). También se utiliza para tratar el infarto de miocardio el activador del plasminógeno tisular humano (tPA), un producto de la tecnología del DNA recombinante (Métodos Bioquímicos 18.1), que actúa de una forma semejante.

La enzima asparaginasa se utiliza para tratar varios tipos de cáncer. Cataliza la reacción siguiente:

$$\text{L-asparagina} + H_2O \rightarrow \text{L-aspartato} + NH_3$$

La asparaginasa se encuentra en los vegetales, los vertebrados y las bacterias, pero no en la sangre humana. A diferencia de la mayoría de las células normales, las células de determinadas clases de tumores, como las de varias formas de leucemia del adulto, no pueden sintetizar asparaginasa. La infusión de asparaginasa reduce la concentración en sangre de asparagina y suele producir la regresión del tumor. (La regresión de estos tumores no se comprende completamente. Presumiblemente, la carencia de asparagina inhibe la síntesis de proteínas, produciendo la muerte celular.) El tratamiento con asparaginasa tiene varios efectos secundarios graves, como las reacciones alérgicas y el daño hepático. Desafortunadamente, tras varios tratamientos con asparaginasa algunos pacientes presentan resistencia. (La *resistencia* es una situación en la que las células tumorales crecen a pesar de la presencia de una sustancia tóxica que previamente producía la regresión del tumor.) Aparentemente, algunas células tumorales pueden inducir la síntesis de asparagina sintetasa, una enzima que convierte el aspartato en asparagina.

RESUMEN

1. Las enzimas son catalizadores biológicos. Aumentan la velocidad de una reacción al proporcionar una ruta de reacción alternativa que requiere menos energía que la reacción sin catalizar. A diferencia de algunos catalizadores inorgánicos, la mayoría de las enzimas catalizan reacciones a temperaturas suaves. Además, las enzimas son específicas para las clases de reacciones que catalizan. Cada clase de enzima tiene una superficie de unión única con una forma enrevesada denominada lugar activo. El sustrato se une al lugar activo de la enzima, que consiste en una pequeña hendidura o grieta en una molécula grande de proteína. En el modelo llave-cerradura de la acción enzimática, las estructuras del lugar activo de la enzima y el estado de transición del sustrato son complementarios. En el modelo de ajuste inducido, la molécula de proteína se supone que es flexible.
2. Cada enzima se clasifica y nombra en la actualidad de acuerdo con la clase de reacción que cataliza. Existen seis categorías principales de enzimas: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas.
3. La cinética enzimática consiste en el estudio cuantitativo de la catálisis enzimática. De acuerdo con el modelo de Michaelis-Menten, cuando el sustrato S se une al lugar activo de una enzima E, se forma un complejo de estado de transición ES. Durante el estado de transición, el sustrato se convierte en producto. Tras un tiempo, el producto se disocia de la enzima. En la ecuación de Michaelis-Menten,

$$v = \frac{V_{máx}[S]}{[S] + K_m}$$

$V_{máx}$ es la velocidad máxima de la reacción y K_m es una constante de velocidad. Las determinaciones experimentales de K_m y $V_{máx}$ se realizan con las representaciones dobles inversas de Lineweaver-Burk.
4. El número de recambio (k_{cat}) es una medida del número de moléculas de sustrato que se convierten en producto por una enzima en la unidad de tiempo cuando está saturada con el sustrato. Debido a que en condiciones fisiológicas [S] es relativamente baja ([S] $\ll$ K_m), el término k_{cat}/K_m es una medida más fiable de la eficacia catalítica de las enzimas.
5. La inhibición enzimática puede ser reversible e irreversible. Los inhibidores irreversibles normalmente se unen de forma covalente a las enzimas. En la inhibición reversible, el inhibidor puede disociarse de la enzima. Los tipos más comunes de inhibición reversible son competitiva, acompetitiva y no competitiva.
6. Las propiedades cinéticas de las enzimas alostéricas no se explican por el modelo de Michaelis-Menten. La mayoría de las enzimas alostéricas son proteínas con varias subunidades. La unión del sustrato o efector a una subunidad afecta a las propiedades de unión de otros protómeros.
7. Las enzimas utilizan los mismos mecanismos catalíticos que los catalizadores no enzimáticos. Diversos factores contribuyen a la catálisis enzimática: efectos de proximidad y tensión, efectos electrostáticos, catálisis acidobásica y catálisis covalente. Las combinaciones de estos factores afectan a los mecanismos enzimáticos.
8. Las cadenas laterales de los aminoácidos del lugar activo son principalmente responsables de catalizar las transferencias de protones y sustituciones nucleófilas. Las enzimas utilizan los cofactores no proteicos (metales y coenzimas) para catalizar otros tipos de reacciones.
9. Las enzimas son sensibles a los factores ambientales como la temperatura y el pH. Cada enzima posee una temperatura óptima y un pH óptimo.
10. Las reacciones químicas de las células están organizadas en una serie de rutas bioquímicas. Las rutas están controladas principalmente por ajustes de la concentración y por las actividades de las enzimas a través de control genético, modificación covalente, regulación alostérica y compartimentalización.

LECTURAS RECOMENDADAS

Copeland, R.A., *Enzymes: A Practical Inroduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*, Wiley-VCH, New York, 1996.

Cornish-Bowden, A., *Fundamentals of Enzyme Kinetics*, Portland Press, London, 1995.

Dische, Z., The Discovery of Feedback Inhibition, *Trends Biochem. Sci.*, 1:269-270, 1976.

Fersht, A., *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*, W.H. Freeman, New York, 1999.

Gutfreund, H., *Kinetics for the Life Sciences: Receptors, Transmitters and Catalysis*, Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

Kraut, J., How Do Enzymes Work? *Science*, 242:533-540, 1998.

Miller, J.A., Women in Chemistry, in Kass-Simon, G, and Fannes, P. (Eds.), *Women in Science: Righting the Record*, pp. 300-334, Indiana University Press, Bloomington, 1990.

Monod, J., Changeaux, J-P., and Jacob, F., Allosteric Proteins and Cellular Control Systems, *J. Mol. Biol.*, 6:306-329, 1963.

Perutz, M.F., Mechanisms of Cooperativity and Allosteric Regulation in Proteins, *Quart. Rev. Biophys.*, 22:139-151, 989.

Schultz, P.G., The Interplay Between Chemistry and Biology in the Design of Enzymatic Catalysis, *Science*, 240:426-433, 1988.

Segel, I.R., *Biochemical Calculations: How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry*, 2ª ed., John Wiley &Sons, New York, 1976.

PALABRAS CLAVE

actividad específica, *172*
apoenzima, *164*
cinética enzimática, *167*
coenzima, *164*
cofactor, *164*
cooperatividad negativa, *192*
cooperatividad positiva, *192*
energía de activación, *162*
enzima alostérica, *176*
enzima reguladora, *190*
estado de transición, *162*
flavoproteína, *183*
hidrolasa, *165*
holoenzima, *164*
inducción enzimática, *189*
inhibidor, *173*
isoenzima, *196*
isomerasa, *165*
liasa, *165*
ligasa, *165*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Definir con claridad los términos siguientes:
   a. energía de activación
   b. catálisis
   c. lugar activo
   d. coenzima
   e. velocidad de una reacción química
   f. vida media
   g. número de recambio
   h. katal
   i. inhibidor no competitivo
   j. represión
2. ¿Cuáles son cuatro propiedades importantes de las enzimas?
3. Los seres vivos deben regular la velocidad de los procesos catalíticos. Explique cómo regulan las células las reacciones enzimáticas.
4. Determine la clase de enzima que con mayor probabilidad cataliza cada una de las reacciones siguientes. Véase en la parte inferior la Figura 6D.
5. Varios factores contribuyen a la catálisis enzimática. ¿Cuáles son? Explique brevemente el efecto de cada uno.
6. Dé tres razones por las que es importante la regulación de los procesos bioquímicos.
7. Describa la retroinhibición negativa.
8. Describa los dos modelos que explican la unión en las enzimas alostéricas. Utilice ambos modelos para explicar la unión del oxígeno a la hemoglobina.
9. ¿Cuáles son las principales coenzimas? Describa brevemente la función de cada una.
10. ¿Qué propiedades de los metales de transición los hacen útiles como cofactores enzimáticos?
11. La ΔH de la reacción siguiente es −28.2 kJ/mol:

    $C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \rightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$
    glucosa

    Explique por qué la glucosa es estable en una atmósfera de oxígeno durante períodos de tiempo apreciables.
12. Las enzimas actúan reduciendo la energía de activación de una reacción. Describa varias formas por las que esto se consigue.
13. En la cinética enzimática, ¿por qué se realizan las medidas al comienzo de una reacción?
14. La histidina se utiliza frecuentemente como ácido general o base general en la catálisis enzimática. Considere los pK_a de los grupos laterales de los aminoácidos del Cuadro 5.2 para sugerir una razón por la que esto es así.
15. Las enzimas son estereoquímicamente específicas; es decir, suelen convertir sólo una forma estereoisomérica de sustrato en producto. ¿Por qué esta especificidad es inherente en su estructura?

FIGURA 6D

(a) $CH_3—CH_2—OH$ + NAD^+ → $CH_3—C(=O)—H$ + NADH + H^+

(b) $CH_3—C(=O)—C(=O)—OH$ + $R—CH(NH_2)—C(=O)—OH$ → $CH_3—CH(NH_2)—C(=O)—OH$ + $R—C(=O)—C(=O)—OH$

(c) $HO—C(=O)—CH(OH)—CH_2—C(=O)—OH$ → $HO—C(=O)—CH=CH—C(=O)—OH$ + H_2O

(d) $HC(=O)—C(H)(OH)—C(H)(OH)—C(H)(OH)—C(H)(OH)—CH_2OH$ (HO—C—H, HO—C—H, H—C—OH, H—C—OH) → $HC(=O)$ (H—C—H, HO—C—H, H—C—OH, H—C—OH) $—CH_2OH$

(e) CO_2 + $CH_3—C(=O)—C(=O)—OH$ + ATP → $HO—C(=O)—CH_2—C(=O)—C(=O)—OH$ + ADP + P_i

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Considere la siguiente reacción:



Piruvato



Utilizando los datos siguientes, determine el orden de la reacción para cada sustrato y el orden global de la reacción.

Experimento	[Piruvato]*	[ADP]	[P_i]	[Velocidad]
1	0.1	0.1	0.1	8×10^{-4}
2	0.2	0.1	0.1	1.6×10^{-3}
3	0.2	0.2	0.1	3.2×10^{-3}
4	0.1	0.1	0.2	3.2×10^{-3}

* Las concentraciones están en moles por litro. Las velocidades enzimáticas están medidas en moles por litro por segundo.

2. Considere los siguientes datos para una reacción de hidrólisis catalizada por una enzima por el inhibidor I:

[Sustrato] (M)	v (μm/min)	v_I (μm/min)
6×10^{-6}	20.8	4.2
1×10^{-5}	29	5.8
2×10^{-5}	45	9
6×10^{-5}	67.6	13.6
1.8×10^{-4}	87	16.2

Utilizando una representación de Michaelis-Menten, determine la K_m de la reacción sin inhibir y de la reacción inhibida.

3. Utilizando los datos de la Pregunta 2:
   a. Genere una representación de Lineweaver-Burk de los datos.
   b. Explique el significado de (i) la intersección horizontal, (ii) la intersección vertical, (iii) la pendiente.
   c. ¿Qué tipo de inhibición se está midiendo?
4. ¿Cuáles son los dos tipos de inhibidores enzimáticos? Dé un ejemplo de cada uno.
5. Se han realizado dos experimentos con la enzima ribonucleasa. En el experimento 1 se midió el efecto del incremento de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción. En el experimento 2, las mezclas de reacción fueron idénticas a las del experimento 1 excepto la adición de 0.1 mg de un compuesto desconocido a cada tubo. Represente los datos de acuerdo con el método de Lineweaver-Burk. Determine el efecto del compuesto desconocido sobre la actividad enzimática. (La concentración de sustrato se mide en milimoles por litro. La velocidad se mide por el cambio de la densidad óptica por hora.)

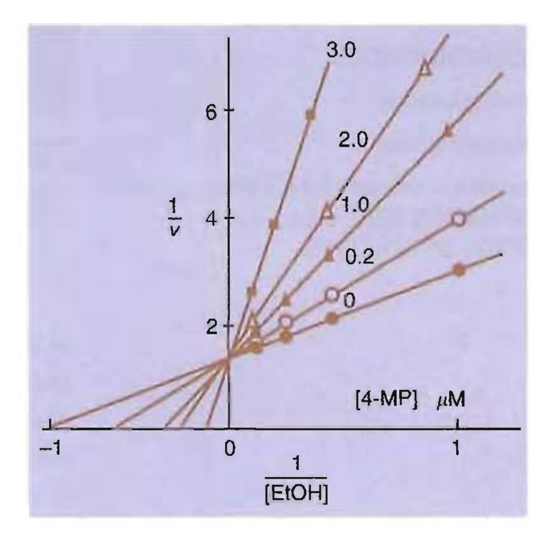
Experimento 1 [S]	v	Experimento 2 [S]	v
0.5	0.81	0.5	0.42
0.67	0.95	0.67	0.53
1	1.25	1	0.71
2	1.61	2	1.08

6. Sugiera una razón por la cual las enzimas pueden protegerse parcialmente de la desnaturalización térmica por concentraciones elevadas de sustrato.
7. Describa el mecanismo de la quimotripsina. Muestre cómo participan en la reacción los residuos de aminoácido del lugar activo.
8. La alcohol deshidrogenasa se inhibe por numerosos alcoholes. Utilizando los datos de la tabla siguiente, calcule los valores de k_{cat}/K_m para cada uno de los alcoholes. ¿Cuál de los alcoholes de la lista metaboliza más fácilmente la alcohol deshidrogenasa?

Parámetros cinéticos para la ADH de testículo de hamster

Sustrato	K_m (μM)	k_{cat} (min^{-1})
Etanol	960	480
1-butanol	440	450
1-hexanol	69	182
12-hidroxi-dodecanoato	50	146
todo-trans-retinol	20	78
alcohol bencílico	410	82
2-butanol	250 000	25
ciclohexanol	31 000	122

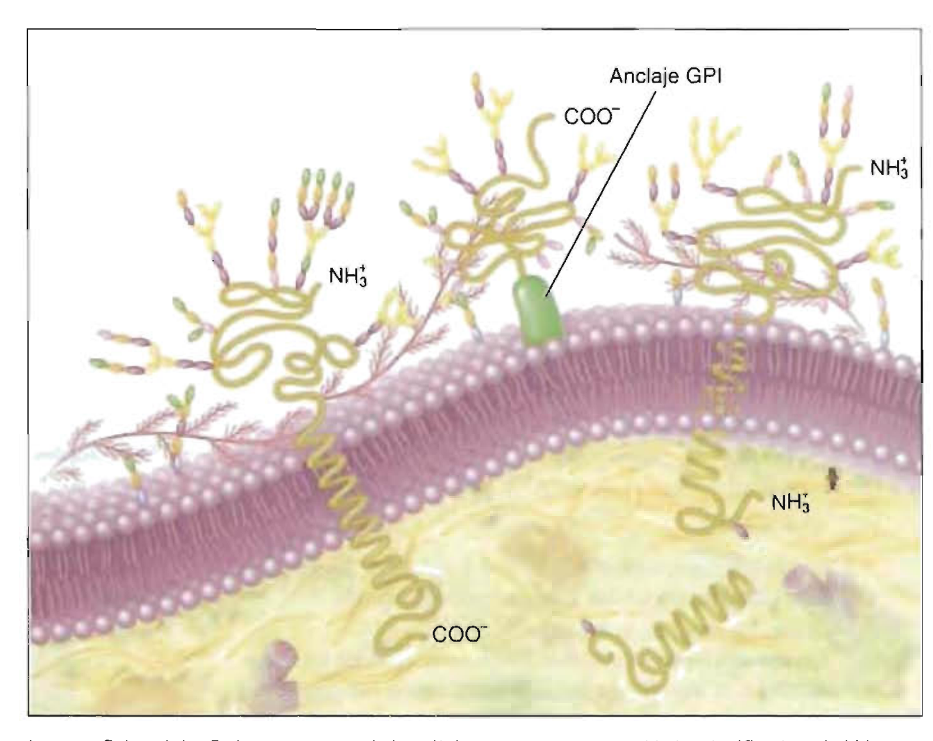
9. Se ha diseñado el 4-metil pirazol como una alternativa más duradera y menos tóxica al etanol en el tratamiento del envenenamiento por etilenglicol. Se muestra una representación de Lineweaver-Burk de la inhibición de la alcohol deshidrogenasa por varias concentraciones de 4-metil pirazol. ¿Qué tipo de inhibición parece exhibir esta molécula?



CAPÍTULO SIETE

Hidratos de carbono

SUMARIO



La superficie celular En la cara externa de las células se encuentran cantidades significativas de hidratos de carbono unidas a las proteínas y los lípidos de la membrana. (Bolas coloreadas = residuos de azúcar; anclaje GPI = molécula lipídica compleja que conecta muchas proteínas de la superficie celular a la bicapa fosfolipídica de la membrana plasmática)

Los hidratos de carbono no son sólo una fuente importante de producción rápida de energía en las células, sino que son también bloques de construcción estructurales de las células y componentes de numerosas rutas metabólicas. Un intervalo amplio de fenómenos celulares, como el reconocimiento celular y la unión (p. ej., por otras células, hormonas o virus) dependen de los hidratos de carbono. El Capítulo 7 describe las estructuras y reacciones químicas de las moléculas características de los hidratos de carbono en los seres vivos.

Los hidratos de carbono, las biomoléculas más abundantes de la naturaleza, conectan directamente la energía solar y la energía del enlace químico de los seres vivos. (Más de la mitad de todo el carbono «orgánico» se encuentra en los hidratos de carbono.) Se forman durante la *fotosíntesis* (Capítulo 13), un proceso bioquímico en el que se captura la energía luminosa y se utiliza para impulsar la biosíntesis de moléculas orgánicas con energía abundante a partir de las moléculas con poca energía CO_2 y H_2O. La mayoría de los hidratos de carbono contienen carbono, hidrógeno y oxígeno con una proporción $(CH_2O)_n$, de aquí el nombre de hidrato de carbono. Se han adaptado a una amplia diversidad de funciones biológicas, como fuentes de energía (p. ej., glucosa), elementos estructurales (p. ej., celulosa y quitina en los vegetales e insectos, respectivamente) y precursores de la producción de otras biomoléculas (p. ej., aminoácidos, lípidos, purinas y pirimidinas). Los hidratos de carbono se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, de acuerdo con el número de unidades de azúcar sencillo que contienen. Los hidratos de carbono también se encuentran como partes integrantes de otras biomoléculas. Un grupo extenso de *glucoconjugados* (moléculas proteicas y lipídicas con grupos de hidratos de carbono ligados covalentemente) están repartidos entre todas las especies vivientes, de forma más notoria, entre los eucariotas. Determinadas moléculas de hidratos de carbono (los azúcares ribosa y desoxirribosa) son elementos estructurales de nucleótidos y ácidos nucleicos.

Recientemente se ha hecho cada vez más evidente que los hidratos de carbono proporcionan a los seres vivos capacidades informativas enormes. Las investigaciones de los procesos biológicos, como la transducción de señales, las interacciones célula-célula y la endocitosis, han descubierto que habitualmente participa la unión de moléculas de glucoconjugados como las glucoproteínas y los glucolípidos o hidratos de carbono libres con receptores complementarios. El Capítulo 7 proporciona fundamentos para comprender los complejos procesos de los seres vivos, revisando la estructura y función de los hidratos de carbono y los glucoconjugados más comunes. El capítulo termina con una consideración del *código de azúcares*, el mecanismo mediante el cual se utiliza la estructura de los hidratos de carbono para codificar la información biológica (Recuadro de Interés Especial 7.3).

7.1. MONOSACÁRIDOS

Los **monosacáridos** o azúcares sencillos son polihidroxi aldehídos o cetonas. Recuerde del Capítulo 1 que los monosacáridos con un grupo funcional aldehído se denominan **aldosas**, mientras que los que tienen un grupo ceto se denominan *cetosas* (Fig. 7.1). Las aldosas y las cetosas más sencillas son, respectivamente, el gliceraldehído y la dihidroxicetona (Fig. 7.2). Los azucares se clasifican también de acuerdo con el número de átomos de carbono que contienen. Por ejemplo, los azúcares más pequeños, denominados *triosas*, contienen tres átomos de carbono. Los azúcares de cuatro, cinco y seis átomos de carbono se llaman *tetrosas*, *pentosas* y *hexosas*, respectivamente. Los monosacáridos más abundantes en las células son las pentosas y las hexosas. A menudo se describe a los monosacáridos con nombres como aldohexosas y cetopentosas, que combinan la información sobre el número de átomos de carbono y los grupos funcionales. Por ejemplo, la glucosa, un azúcar de seis carbonos que contiene un aldehído, se denomina aldohexosa.

H
|
C=O
|
(H—C—OH)$_n$
|
CH_2OH

Una aldosa

CH_2OH
|
C=O
|
(H—C—OH)$_n$
|
CH_2OH

Una cetosa

FIGURA 7-1
Fórmula general de las formas aldosa y cetosa de los monosacáridos.

H
|
$_1$C=O
|
H—$_2$C—OH
|
$_3CH_2OH$

Gliceraldehído

$_1CH_2OH$
|
$_2$C=O
|
$_3CH_2OH$

Dihidroxiacetona

FIGURA 7-2
Gliceraldehído (una aldotriosa) y dihidroxiacetona (una cetotriosa).

Las estructuras de los azucares que se dan en las Figuras 7.1 y 7.2 se denominan proyecciones de Fischer (en honor del gran químico alemán ganador del premio Nobel Emil Fischer). En estas estructuras, el esqueleto hidrocarbonado se dibuja verticalmente con el carbono más oxidado en la parte superior. Las líneas horizontales se supone que se proyectan hacia el observador, y las líneas verticales se alejan del observador.

PREGUNTA 7.1

Identifique la clase de cada uno de los azúcares siguientes. Por ejemplo, la glucosa es una aldohexosa.

(a)
H
|
C=O
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
CH_2OH

(b)
CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
CH_2OH

(c)
CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
CH_2OH

Estereoisómeros de los monosacáridos

Cuando el número de átomos de carbono quirales aumenta en los compuestos con actividad óptica, aumenta también el número de isómeros ópticos posibles. El número total de isómeros posibles puede determinarse utilizando la regla de van't Hoff: Un compuesto con *n* átomos quirales tiene un máximo de 2^n estereoisómeros posibles. Por ejemplo, cuando *n* es igual a 4, existen 2^4 ó 16 estereoisómeros (8 D- y 8 L-).

En los isómeros ópticos, el carbono de referencia es el carbono asimétrico que está más alejado del carbono carbonilo. Su configuración es semejante a la del carbono asimétrico en el D- o L-gliceraldehído. Casi todos los azúcares naturales tienen la configuración D-. Pueden considerarse derivados de la triosa D-gliceraldehído (las aldosas) o de la triosa no quiral dihidroxiacetona (las cetosas). (Observe que aunque la dihidroxiacetona no tiene un carbono asimétrico, es claramente el compuesto de referencia para las cetosas.) En la familia de azúcares de D-aldosa (Fig. 7.3), que contiene los monosacáridos biológicos más importantes, el grupo hidroxilo está hacia la derecha sobre el átomo de carbono quiral más alejado del carbono más oxidado (en este caso el grupo aldehído) de la molécula (p. ej., carbono 5 en un azúcar de seis carbonos).

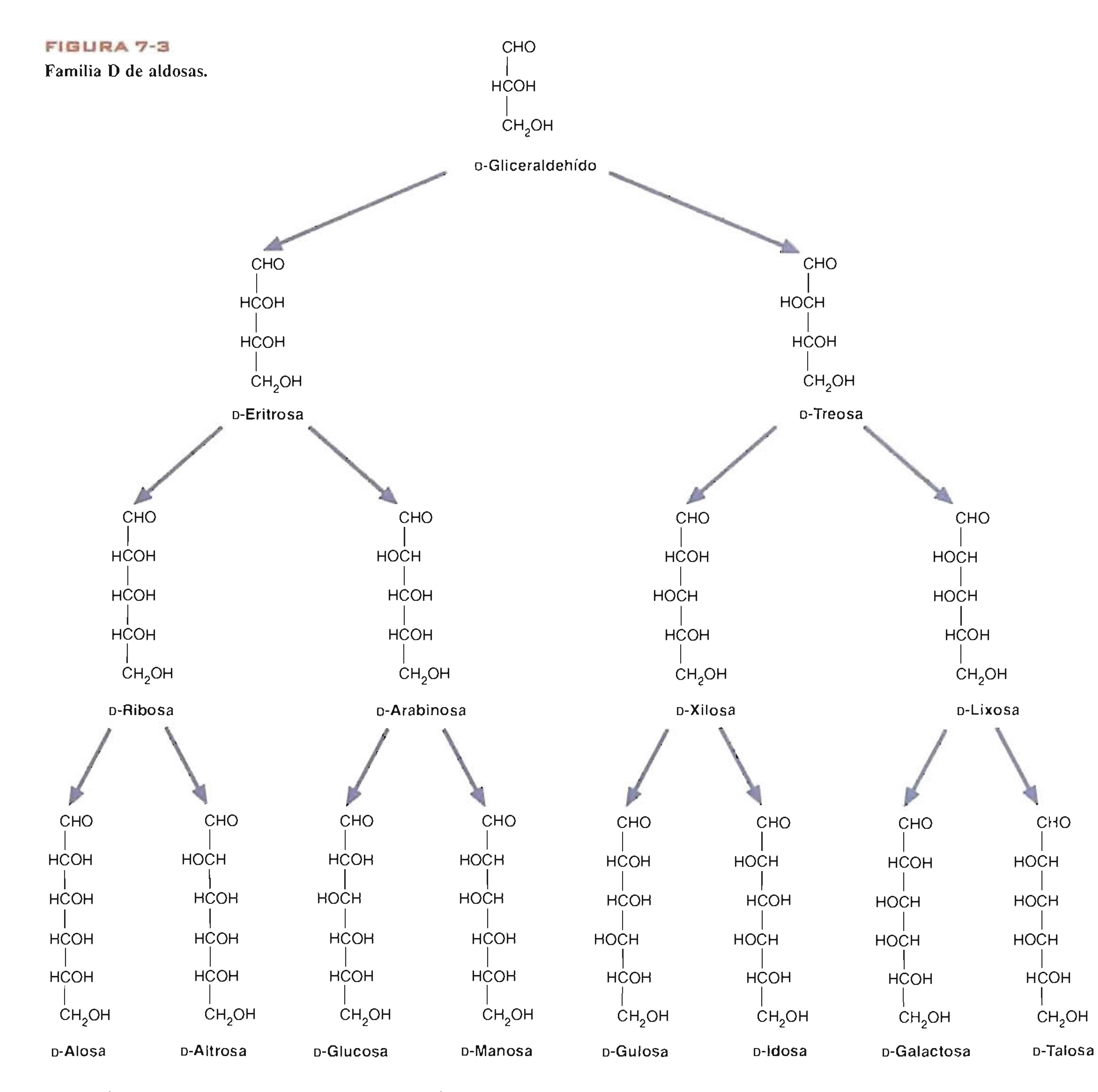
Los estereoisómeros que no son enantiómeros (isómeros especulares) se denominan **diastereómeros**. Por ejemplo, las aldopentosas D-ribosa y L-ribosa son enantiómeros, igual que la D-arabinosa y la L-arabinosa (Fig. 7.4). Los azúcares D-ribosa y D-arabinosa son diastereómeros debido a que son isómeros pero no imágenes especulares.

Los diastereómeros que se diferencian en la configuración de un único átomo de carbono asimétrico se denominan **epímeros**. Por ejemplo, la D-glucosa y la D-galactosa son epímeros debido a que sus estructuras sólo se diferencian en la configuración del grupo OH del carbono 4 (Fig. 7.3). La D-manosa y la D-galactosa no son epímeros, ya que sus configuraciones se diferencian en más de un carbono.

PREGUNTA 7.2

Cuando se observan en dos dimensiones (como en una página impresa), las diferencias estructurales entre los isómeros ópticos pueden parecer triviales. Sin embargo, muchas biomoléculas son ópticamente activas y la capacidad de las enzimas para diferenciar entre moléculas de sustrato D- y L- es una característica importante de la química celular. Por ejemplo, la mayoría de las enzimas que degradan los hidratos de carbono del alimento pueden unir azúcares D- pero no sus isómeros L-. ¿Puede convencerse a sí mismo de que los isómeros D- y L- de una molécula con actividad óptica son realmente diferentes en el espacio tridimensional? Haga mo-

FIGURA 7-3
Familia D de aldosas.



delos del D- y el L-gliceraldehído con un equipo de modelos de química orgánica o con bolas de espuma y palillos de dientes coloreados.

Estructura cíclica de los monosacáridos

Los azúcares que contienen cuatro o más carbonos se encuentran principalmente en formas cíclicas. La formación del anillo se produce en disolución acuosa debido a que los grupos aldehído y cetona reaccionan reversiblemente con los grupos hidroxilo presentes en el azúcar para formar **hemiacetales** y **hemicetales** cíclicos, respectivamente. Los hemiacetales y hemicetales ordinarios, que se forman cuando las mo-

D-Ribosa L-Ribosa

D-Arabinosa L-Arabinosa

FIGURA 7-4

Isómeros ópticos D- y L-ribosa y D- y L-arabinosa.

La D-ribosa y la D-arabinosa son distereómeros; esto es, no son imágenes especulares.

Aldehído Alcohol Hemiacetal

(a)

Cetona Alcohol Hemicetal

(b)

FIGURA 7-5

Formación de hemiacetales y hemicetales.

(a) De un aldehído. (b) De una cetona.

léculas que contienen un grupo funcional aldehído o cetona reaccionan con un alcohol, son inestables y revierten fácilmente a sus formas aldehído o cetona (Fig. 7.5). Sin embargo, cuando el grupo aldehído o cetona y el grupo funcional alcohol son parte de la misma molécula se produce una reacción de ciclación intramolecular que puede formar productos estables. Los anillos hemiacetal y hemicetal cíclicos más estables contienen cinco o seis átomos. Al producirse la ciclación, el carbono carbonilo se transforma en un nuevo centro quiral. Este carbono se denomina *átomo de carbono anomérico*. Los dos diastereómeros posibles que pueden formarse durante la reacción de ciclación se denominan **anómeros**.

En los azúcares aldosa, el grupo hidroxilo del recién formado hemiacetal se produce en el carbono 1 (el carbono anomérico) y puede tener lugar bien por encima del anillo (en la posición «hacia arriba») o por debajo del anillo (en la posición «hacia abajo»). Cuando el hidroxilo está hacia abajo, la estructura está en la forma anomérica α. Si el grupo hidroxilo está hacia arriba, la estructura está en la forma anomérica β. En las proyecciones de Fischer, el hidroxilo anomérico α se produce hacia la derecha y el hidroxilo β hacia la izquierda (Fig. 7.6). Es importante señalar que los anómeros se definen con relación a la clasificación de azúcares D- y L-. Las reglas anteriores sólo se aplican a los azúcares D-, los más comunes de la naturaleza. En los azúcares L- el grupo OH α-anomérico está por encima del anillo. La ciclación de los azúcares se ve mejor con las estructuras de Haworth.

ESTRUCTURAS DE HAWORTH Las proyecciones de Fischer de las moléculas de azúcar cíclicas utilizan un enlace largo para indicar la estructura de anillo.

D-Glucosa α-D-Glucosa β-D-Glucosa

FIGURA 7-6

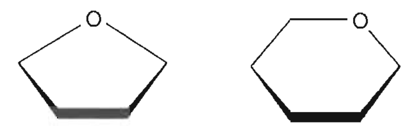
Estructura de monosacárido.

Formación de la estructura hemiacetal de la glucosa. Se forman ambos anómeros α y β de la glucosa.

El químico inglés W.N. Haworth ideó una imagen más exacta de la estructura de los hidratos de carbono (Fig. 7.7).

Las estructuras de Haworth representan de forma más ajustada los ángulos y longitudes de enlace que las representaciones de Fischer. Para convertir la fórmula tradicional de Fischer de una D-pentosa o D-hexosa en una fórmula de Haworth deben seguirse los siguientes pasos:

1. Dibujar un anillo de cinco o seis miembros con el oxígeno situado como se indica más abajo:



Anillo de cinco miembros **Anillo de seis miembros**

2. Comenzando con el carbono anomérico hacia la derecha del oxígeno del anillo, colocar los grupos hidroxilo bien por encima o bien por debajo del plano del anillo. Los grupos que apuntan hacia la izquierda en la fórmula de proyección de Fischer deben ir por encima del plano del anillo, y aquellos que apuntan hacia la derecha en la fórmula de proyeccción de Fischer deben ir por debajo del anillo.
3. En los azúcares D-, la posición del último carbono (p. ej., C-6 de la glucosa) está siempre hacia arriba.

Los anillos hemiacetálicos de cinco miembros se denominan *furanosas* debido a su semejanza estructural con el furano (Fig. 7.8). Por ejemplo, la forma cíclica de la fructosa que se describe en la Figura 7.9 se denomina fructofuranosa. Los anillos de seis miembros se denominan *piranosas* debido a su semejanza con el pirano. La glucosa, en la forma piranosa, se denomina glucopiranosa.

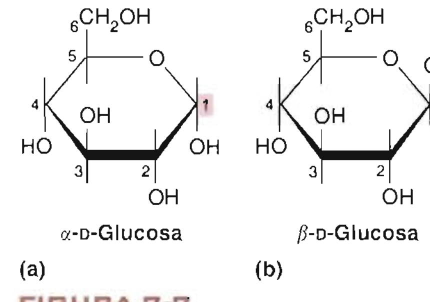


FIGURA 7-7

Estructuras de Haworth de los anómeros de la glucosa.

(a) α-D-Glucosa. (b) β-D-Glucosa.

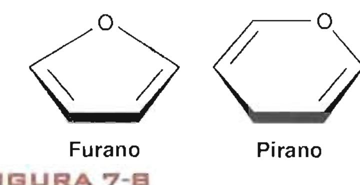


FIGURA 7-8

Furano y pirano.

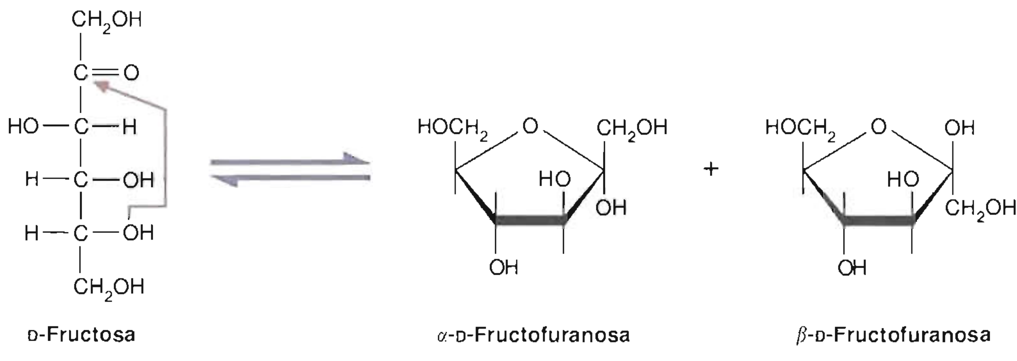


FIGURA 7-9

Formas de Fischer y de Haworth de la D-fructosa.

PREGUNTA 7.3

Convertir las estructuras de Fischer siguientes en estructuras cíclicas de Haworth:

H	H	
C=O	C=O	CH_2OH
HO—C—H	HO—C—H	C=O
HO—C—H	H—C—OH	HO—C—H
H—C—OH	HO—C—H	H—C—OH
H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH
CH_2OH	COOH	CH_2OH

Nombre los anómeros que se producen en la ciclación de estas moléculas.

α-D-Glucopiranosa

β-D-Glucopiranosa

FIGURA 7-10
α- y β-Glucosa.

ESTRUCTURAS CONFORMACIONALES Aunque las fórmulas de proyección de Haworth suelen utilizarse para representar la estructura de los hidratos de carbono, son una simplificación. El análisis de los ángulos de enlace y los análisis de rayos X han demostrado que las *fórmulas conformacionales* son representaciones más exactas de la estructura de los monosacáridos (Fig. 7.10). Las estructuras conformacionales son más exactas debido a que ilustran la naturaleza encogida de los anillos de los azúcares.

Los *modelos de relleno espacial*, cuyas dimensiones son proporcionales a los radios de los átomos, proporcionan también una información estructural útil. (Véanse las Figs. 7.19, 7.20 y 7.21.) Los monosacáridos experimentan las reacciones que son típicas de los aldehídos, las cetonas y los alcoholes. A continuación se describen las más importantes de éstas en los seres vivos.

MUTARROTACIÓN Las formas α y β de los monosacáridos se interconvierten con facilidad cuando se disuelven en agua. Este proceso espontáneo, denominado **mutarrotación**, produce una mezcla de equilibrio de las formas α y β en las estructuras de anillo de furanosa y de piranosa. La proporción de cada forma varía con cada tipo de azúcar. Por ejemplo, la glucosa se encuentra principalmente como una mezcla de las formas de piranosa α (38 %) y β (62 %) (Fig. 7.11). La fructosa se encuentra predominantemente en las formas furanosas α y β. La cadena abierta que se forma durante la mutarrotación puede participar en reacciones de oxidación-reducción.

REACCIONES DE OXIDACIÓN-REDUCCIÓN En presencia de agentes oxidantes, iones metálicos como el Cu^{2+} y determinadas enzimas, los monosacáridos, experimentan fácilmente varias reacciones de oxidación. La oxidación de un

CONCEPTOS CLAVE 7.1

Los monosacáridos, polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, son aldosas o cetosas. Los azúcares que contienen cuatro o más carbonos tienen principalmente formas cíclicas. Las aldosas o cetosas cíclicas son hemiacetales o hemicetales, respectivamente.

α-D-Glucopiranosa
38%

β-D-Glucopiranosa
62%

~0.02%

α-D-Glucofuranosa
Menos del 0.5%

β-D-Glucofuranosa
Menos del 0.5%

FIGURA 7-11
Mezcla de equilibrio de la D-glucosa.
Cuando se disuelve la glucosa en agua a 25 °C, las formas anoméricas del azúcar experimentan interconversiones muy rápidas. Cuando se alcanza el equilibrio (es decir, no hay un cambio neto de la cantidad de cada forma), la disolución de glucosa contiene los porcentajes que se indican.

Ácido D-glucónico   Ácido D-glucurónico   Ácido D-glucárico

FIGURA 7-12
Productos de la oxidación de la glucosa.
Se han recuadrado los grupos oxidados que se forman.

grupo aldehído da lugar a un **ácido aldónico**, mientras que la oxidación de un grupo terminal CH_2OH (pero no el grupo aldehído) da lugar a un **ácido urónico**. La oxidación del aldehído y del CH_2OH da un **ácido aldárico** (Fig. 7.12).

Los grupos carbonilo de los ácidos aldónicos y aldáricos pueden reaccionar con un grupo OH de la misma molécula para formar un éster cíclico conocido como **lactona**:

Ácido D-glucónico (Un ácido aldónico) → D-Glucono-δ-lactona

Ácido D-glucurónico (Un ácido urónico) → D-Glucurono-δ-lactona

Las lactonas se encuentran habitualmente en la naturaleza. Por ejemplo, el ácido L-ascórbico (vitamina C) es un derivado lactona del ácido D-glucurónico (Recuadro de Interés Especial 7.1).

Los azúcares que pueden oxidarse por agentes oxidantes débiles como el reactivo de Benedict se denominan **azúcares reductores** (Fig. 7.13). Debido a que la

FIGURA 7-13

Reacción de la glucosa con el reactivo de Benedict.

El reactivo de Benedict, sulfato de cobre (II) en una disolución de carbonato sódico y citrato sódico, se reduce por el monosacárido glucosa. La glucosa se oxida para formar la sal del ácido glucónico. La reacción forma también un precipitado pardo-rojizo de Cu_2O y otros productos de oxidación.

D-Glucosa D-Glucitol

FIGURA 7-14

Reducción en el laboratorio de la glucosa para formar D-glucitol (sorbitol).

reacción sólo se produce con azúcares que pueden revertir a la forma de cadena abierta, todos los monosacáridos son azúcares reductores.

REDUCCIÓN La reducción de los grupos aldehído y cetona de los monosacáridos proporciona los azúcares alcohol (**alditoles**). Por ejemplo, la reducción de la D-glucosa proporciona D-glucitol, que también se conoce como D-sorbitol (Fig. 7.14). Los azúcares alcohol se utilizan comercialmente en preparaciones alimentarias y farmacéuticas. Por ejemplo, el sorbitol, mejora el período de conservación de los dulces debido a que ayuda a evitar la pérdida de humedad. La adición de jarabe de sorbitol a las frutas envasadas edulcoradas artificialmente reduce el regusto desagradable del edulcorante artificial sacarina. Una vez consumido, el sorbitol se convierte en fructosa en el hígado.

ISOMERIZACIÓN Los monosacáridos experimentan varios tipos de isomerizaciones. Por ejemplo, tras varias horas una disolución alcalina de D-glucosa también contiene D-manosa y D-fructosa. Ambas isomerizaciones implican un desplazamiento intramolecular de un átomo de hidrógeno y una nueva disposición de un doble enlace (Fig. 7.15). El intermediario que se forma se denomina **enediol**. La transformación reversible de la glucosa en fructosa es un ejemplo de interconversión aldosa-cetosa. La conversión de glucosa en manosa se denomina una **epimerización**, ya que cambia la configuración de un único carbono asimétrico. En el metabolismo de los hidratos de carbono tienen lugar varias reacciones catalizadas por enzimas que implican enedioles (Cap. 8).

ESTERIFICACIÓN Como todos los grupos OH libres, los de los hidratos de carbono pueden convertirse en ésteres por reacciones con ácidos. La esterificación

α-Hidroxicetona

D-Fructosa

α-Hidroxialdehído

D-Glucosa

Intermediario enediol

α-Hidroxialdehído

D-Manosa

FIGURA 7-15

Isomerización de la D-glucosa para formar D-manosa y D-fructosa.

En este proceso se forma un intermediario enediol.

suele cambiar considerablemente las propiedades físicas y químicas de los azúcares. Los ésteres fosfato y sulfato de las moléculas de hidratos de carbono se encuentran entre los más comunes de la naturaleza.

Los derivados fosforilados de determinados monosacáridos son componentes metabólicos importantes de las células. Se forman con frecuencia durante las reacciones con el ATP. Son importantes debido a que muchas transformaciones bioquímicas utilizan reacciones de sustitución nucleófila. Estas reacciones requieren un grupo de salida. En una molécula de hidrato de carbono lo más probable es que este grupo sea un grupo OH. Sin embargo, debido a que los grupos OH son malos grupos de salida, es poco probable cualquier reacción de sustitución. El problema se resuelve convirtiendo un grupo OH adecuado en un éster fosfato, que posteriormente puede ser desplazado por un nucleófilo de entrada. Como consecuencia de esto, una reacción lenta se produce ahora más rápidamente.

Los ésteres sulfato de las moléculas de hidratos de carbono se encuentran predominantemente en los componentes proteoglucanos del tejido conjuntivo. Debido a que los ésteres sulfato están cargados, unen grandes cantidades de agua e iones pequeños. Participan también en la formación de puentes salinos entre las cadenas de hidratos de carbono.

PREGUNTA 7.4

Dibuje los compuestos siguientes:

(a) Anómeros α y β de la D-galactosa.
(b) Ácido aldónico, ácido urónico y derivados del ácido aldárico de la galactosa.
(c) Galactitol.
(d) δ-Lactona del ácido galactónico.

FIGURA 7-16
Formación de acetales y cetales.

R—C(H)(OH)—OR′ + R″OH → R—C(H)(OR″)—OR′ + H_2O

Hemiacetal — Acetal

R—C(R)(OH)—OR′ + R″OH → R—C(R)(OR″)—OR′ + H_2O

Hemicetal — Cetal

α-Metilglucósido ← ($+CH_3OH$, $-H_2O$) α-Glucosa ⇌ β-Glucosa → ($+CH_3OH$, $-H_2O$) β-Metilglucósido

FIGURA 7-17
Formación de metil glucósido.
Los componentes de los glucósidos que no son hidratos de carbono se denominan agluconas. Los grupos metilo sombreados son agluconas.

FORMACIÓN DE GLUCÓSIDOS Los hemiacetales y hemicetales reaccionan con los alcoholes para formar el correspondiente **acetal** o **cetal** (Fig. 7.16). Cuando la forma cíclica hemiacetálica o hemicetálica del monosacárido reacciona con un alcohol, el nuevo enlace se denomina **enlace glucosídico**, y el compuesto se denomina un **glucósido**. El nombre del glucósido especifica el componente azúcar. Por ejemplo, los acetales de la glucosa y los cetales de la fructosa se denominan *glucósido* y *fructósido*, respectivamente. Además, los glucósidos derivados de los azúcares con anillos de cinco miembros se denominan *furanósidos*, y los anillos de seis miembros se denominan *piranósidos*. Un ejemplo relativamente sencillo que se muestra en la Figura 7.17 ilustra la reacción de la glucosa con el metanol para formar dos tipos anoméricos de metil glucósidos. Debido a que los glucósidos son acetales, son estables en disoluciones básicas. Las moléculas de hidratos de carbono que sólo contienen grupos acetal no dan reacción positiva con el reactivo de Benedict. (La formación de acetal «bloquea» el anillo, de forma que no puede experimentar una oxidación o mutarrotación.) Sólo los hemiacetales actúan como agentes reductores.

Si se forma un enlace acetal entre el grupo hidroxilo del hemiacetal de un monosacárido y el grupo hidroxilo de otro monosacárido, el glucósido que se forma se denomina **disacárido**. Una molécula que contiene un gran número de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos se denomina **polisacárido**.

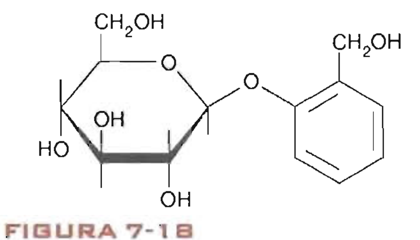
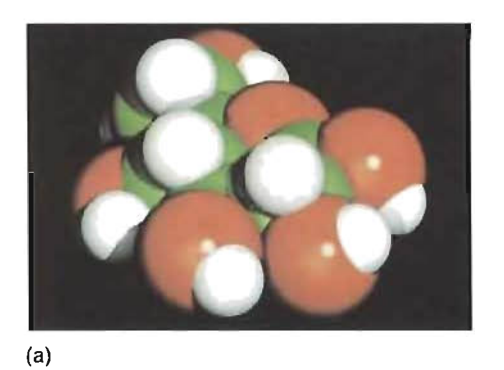


FIGURA 7-18
Salicina.

PREGUNTA 7.5	Dibuje la estructura de una molécula de D-glucosamina unida a la treonina a través de un enlace β-glucosídico.
PREGUNTA 7.6	Los glucósidos se encuentran frecuentemente en la naturaleza. Un ejemplo es la salicina (Fig. 7.18), un compuesto que se encuentra en la corteza de los sauces, que posee propiedades antipiréticas (reductoras de la fiebre) y analgésicas. ¿Puede identificar los componentes hidrato de carbono y aglucona (no hidrato de carbono) de la salicina?



CH_2OH
O
OH
HO
OH
OH

(a) (b)

FIGURA 7-19

α-D-Glucopiranosa.

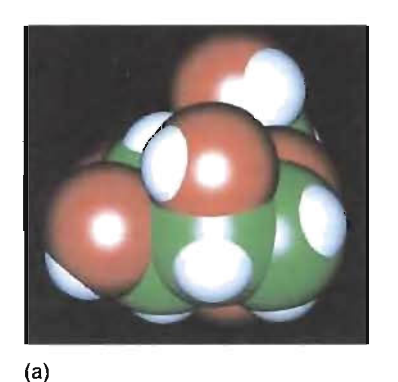
Compare la información que proporciona (a) el modelo de relleno espacial y (b) la estructura de Haworth. Los átomos de carbono están en verde, los átomos de oxígeno en rojo, y los átomos de hidrógeno en blanco.

Monosacáridos importantes

Entre los monosacáridos más importantes de los seres vivos se encuentran la glucosa, la fructosa y la galactosa. Se describen de forma breve las principales funciones de estas moléculas.

GLUCOSA La D-glucosa, que originalmente se denominó dextrosa, se encuentra en cantidades importantes en todo el mundo vivo (Fig. 7.19). Es el principal combustible de las células. En los animales, la glucosa es la fuente de energía preferida de las célula cerebrales y de las células que tienen pocas o ninguna mitocondrias, como los eritrocitos. Las células que tienen un aporte limitado de oxígeno, como las del globo ocular, utilizan también grandes cantidades de glucosa para generar energía. Las fuentes alimentarias son el almidón de las plantas y los disacáridos lactosa, maltosa y sacarosa.

FRUCTOSA La D-fructosa, originalmente denominada levulosa, suele llamarse azúcar de la fruta por su contenido elevado en la fruta. Se encuentra también en algunos vegetales y la miel (Fig. 7.20). Esta molécula es un miembro importante de la familia de azúcares de cetosa. Por gramo, la fructosa es el doble de dulce que la sacarosa. Por lo tanto, puede utilizarse en cantidades menores. Por esta razón, la fructosa se usa frecuentemente como agente edulcorante en los productos alimenticios procesados. Se utilizan cantidades importantes de fructosa en el sistema repro-



$HOCH_2$
O
OH
HO
CH_2OH
OH

(a) (b)

FIGURA 7-20

β-D-Fructofuranosa.

(A) Modelo de relleno espacial y (b) estructura de Haworth.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.1. Ácido ascórbico

El *ácido ascórbico*, una lactona con un peso molecular de 176.1 D, es un agente reductor potente:

Ácido ascórbico

Se sintetiza por todos los mamíferos, excepto los cobayas, los monos, los murciélagos que comen frutas y, obviamente, el ser humano. Estas especies deben obtener el ácido ascórbico (denominado también *vitamina C*) en su alimentación. Las tres enzimas necesarias para sintetizar el ácido ascórbico se han aislado de las fracciones microsómicas de tejido hepático de especies que pueden sintetizar la molécula. Sin embargo, en el ser humano y los cobayas no se ha detectado una de las enzimas (gulonolactona oxidasa). (Los anticuerpos que se unen específicamente a la gulonolactona oxidasa no se unen a los microsomas humanos y de cobaya.) Presumiblemente, la carencia de esta enzima hace que estas especies no puedan sintetizar el ácido ascórbico.

El *escorbuto* (Fig. 7A), la enfermedad producida por el agotamiento significativo de los almacenes corporales de ácido ascórbico, era frecuente en Europa antes de la introducción de los cultivos de tubérculos al final de la Edad Media. Sin embargo, al realizar los europeos viajes más largos en búsqueda de una ruta comercial hacia el Lejano Oriente, los brotes de la enfermedad fueron impresionantes (y frecuentemente documentados). Por ejemplo, un diario de navegación escrito durante la expedición de Vasco de Gama (1498) describe un brote de escorbuto en el viaje de vuelta a través del Mar Arábigo. Los marineros «sufrieron de nuevo de las encías, sus piernas también se hincharon y otras partes del cuerpo, y estas hinchazones se dispersaron hasta que morían, sin mostrar síntomas de otra enfermedad». Durante la expedición los marineros se convencieron de que las naranjas eran una cura para el escorbuto, cuyos síntomas no aparecían hasta 10 semanas después de haber comenzado el viaje.

Cuando James Lind, un cirujano de la Marina Real Británica, realizó su famoso experimento (quizá el primer ensayo clínico controlado) en 1746, comparó los efectos curativos de varios tratamientos en 12 marineros que tenían escorbuto. Dos hombres recibieron cada uno de los seis tratamientos diarios durante dos semanas. De forma breve, los tratamientos eran (1) 1 cuarto de sidra, (2) 25 mL de elixir de vitriolo tres veces al día, (3) 18 mL de vinagre tres veces al día, (4) 0.3 L de agua de mar, (5) dos naranjas y un limón, (6) 4 mL de una pasta medicinal que contenía ajo y semillas de mostaza, entre otras hierbas. De manera contraria a la opinión popular, el trabajo de Lind no demostró la eficacia de los cítricos en el tratamiento del escorbuto; que ya se había aceptado como tratamiento varios cientos de años antes. Realmente, los cítricos eran para Lind los controles positivos. Lind estaba aparentemente interesado en analizar la eficacia del tratamiento oficial de la Marina Británica: vinagre (tratamiento 3). Resultados del ensayo: Los que recibieron las naranjas y limones estaban bien para el trabajo seis días después. Los resultados de los otros tratamientos eran muy variables, aunque significativamente menos eficaces que los cítricos. Lind comunicó sus resultados al Almirantazgo Británico y en 1754 se publicó su trabajo *Tratado sobre el Escorbuto*. Finalmente (1795), la Marina Real aprobó la ración diaria de 1-1/2 onzas de zumo de limón en todos los barcos, originando el mote de «limonero» para los marineros británicos.

Cochlearia
CURIOSA:
OR THE
Curiosities of Scurbygrass.

Being an exact Scrutiny and careful Description of the Nature and Medicinal Vertue of Scurbygrass.

In which is exhibited to publick use the most and best Preparations of Medicines [illegible]

Written in Latine by Dr. [illegible]

Englished by Tho. Sherley, M. D. and Physician in Ordinary to His present Majesty,

LONDON,
Printed by [illegible]



FIGURA 7A

Hierba del escorbuto empleada como remedio para la enfermedad. Página del título de la versión en inglés del libro del siglo XVII de Moellenbrok y su ilustración.

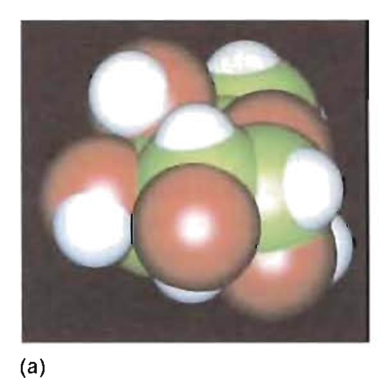
CONCEPTOS CLAVE 7.2

La glucosa, la fructosa y la galactosa se encuentran entre los monosacáridos más importantes de los seres vivos.

ductor masculino. Se sintetiza en las vesículas seminales y posteriormente se incorpora al semen. Los espermatozoides utilizan el azúcar como fuente de energía.

GALACTOSA La galactosa es necesaria para sintetizar diversas biomoléculas (Fig. 7.21), entre las que se encuentran la lactosa (en las glándulas mamarias lactantes), los glucolípidos, determinados fosfolípidos, proteoglucanos y glucoproteínas. La síntesis de estas sustancias no disminuye por las alimentaciones que carecen de galactosa o del disacárido lactosa (la fuente alimentaria principal de galactosa), debido a que el azúcar se sintetiza fácilmente a partir de la glucosa-1-fosfato. Como se mencionó anteriormente, la galactosa y la glucosa son epímeros en el carbono 4. La interconversión de galactosa y glucosa está catalizada por una enzima denominada epimerasa.

En la *galactosemia*, una enfermedad genética, se carece de una enzima requerida para metabolizar la galactosa. Se acumulan galactosa, galactosa-1-fosfato y galacti-



(a) (b)

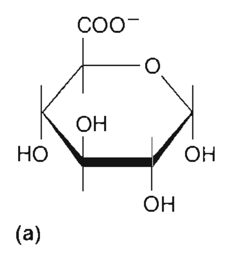
FIGURA 7-21
α-D-Galactopiranosa.
Modelo de relleno espacial y (b) estructura de Haworth.

tol (un derivado azúcar alcohol) que producen daño hepático, cataratas y retraso mental grave. El único tratamiento eficaz es el diagnóstico precoz y una alimentación sin galactosa.

Derivados de monosacáridos

Los azúcares sencillos pueden convertirse en compuestos relacionados desde el punto de vista químico. Varios son componentes metabólicos y estructurales importantes en los seres vivos.

ÁCIDOS URÓNICOS Recuerde que los ácidos urónicos se forman cuando se oxida el grupo CH_2OH terminal de un monosacárido. Dos ácidos urónicos son importantes en los animales: el ácido D-glucurónico y su epímero el ácido L-idurónico (Fig. 7.22). En las células hepáticas el ácido glucurónico se combina con moléculas como los esteroides, determinados fármacos y la bilirrubina (un producto de degradación de la proteína transportadora de oxígeno hemoglobina) para mejorar su hidrosolubilidad. Este proceso ayuda a eliminar los productos de desecho del cuerpo. Tanto el ácido D-glucurónico como el ácido L-idurónico son abundantes en los componentes hidratos de carbono del tejido conjuntivo.



(a)

(b)

FIGURA 7-22
α-D-Glucuronato (a) y β-L-iduronato.

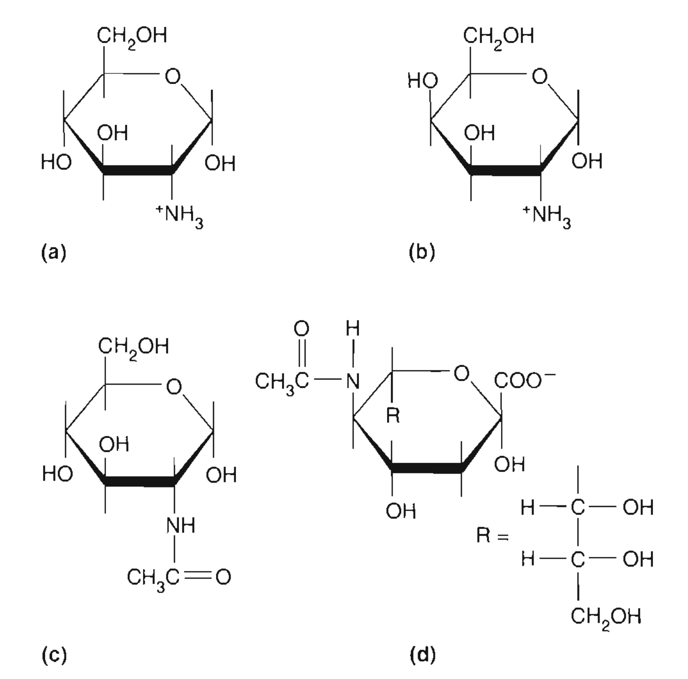
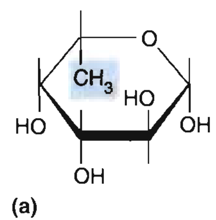


FIGURA 7-23
Aminoazúcares.
(a) α-D-Glucosamina, (b) α-D-galactosamina, (c) N-acetil-α-D-glucosamina y (d) ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico).



(a)

(b)

FIGURA 7-24

Desoxiazúcares.

(a) β-L-Fucosa (6-desoxigalactosa) y (b) 2-desoxi-β-D-ribosa. Se recuadran los átomos de carbono que tienen grupos —OH sustituidos por —H.

AMINOAZÚCARES En los aminoazúcares un grupo hidroxilo (habitualmente el del carbono 2) está sustituido por un grupo amino (Fig. 7.23). Estos compuestos son constituyentes comunes de las moléculas complejas de hidratos de carbono unidas a las proteínas y a los lípidos celulares. Los aminoazúcares más comunes de las células animales son la D-glucosamina y la D-galactosamina. Los aminoazúcares suelen estar acetilados. Una molécula de este tipo es la N-acetil-D-glucosamina. El ácido N-acetil-neuramínico (la forma más común de ácido siálico) es un producto de condensación de la D-manosamina y el ácido pirúvico, un ácido 2-cetocarboxílico. Los ácidos siálicos son cetosas que contienen nueve átomos de carbono que pueden amidarse con ácido acético o ácido glicólico (ácido hidroxiacético). Son componentes comunes de las glucoproteínas y los glucolípidos.

DESOXIAZÚCARES Los monosacáridos en los que un grupo —OH ha sido sustituido por un —H se denominan *desoxiazúcares*. La L-fucosa (formada a partir de la D-manosa por reacciones de reducción) y la 2-desoxi-D-ribosa son dos desoxiazúcares importantes de las células (Fig. 7.24). La fucosa suele encontrarse entre los componentes hidratos de carbono de las glucoproteínas, como las que determinan los grupos sanguíneos ABO sobre la superficie de los eritrocitos. Como se mencionó en la Sección 1.2, la 2-desoxirribosa es el azúcar pentosa integrante del DNA.

7.2. DISACÁRIDOS Y OLIGOSACÁRIDOS

Cuando están unidos mediante enlaces glucosídicos, los monosacáridos forman varias moléculas que realizan diversas funciones biológicas. Los disacáridos son glucósidos formados por dos monosacáridos. El término **oligosacárido** se utiliza para polímeros de azúcares relativamente pequeños que constan de dos a diez o más unidades de monosacárido.

Cuando una molécula de monosacárido está unida a través de su átomo de carbono anomérico al grupo hidroxilo del carbono 4 de otro monosacárido, el enlace glucosídico se denomina 1,4. Debido a que el grupo hidroxilo anomérico potencialmente puede estar en la configuración α o β, pueden formarse dos disacáridos posibles cuando se unen dos moléculas de azúcar: $\alpha(1,4)$ o $\beta(1,4)$. También se producen otras variedades de enlaces glucosídicos (es decir, enlaces α o $\beta(1,1),(1,2),(1,3)$ y (1,6) (Fig. 7.25).

La digestión de los disacáridos y de otros hidratos de carbono se produce por enzimas sintetizadas por las células que tapizan el intestino delgado. La deficiencia de alguna de estas enzimas produce síntomas desagradables cuando se ingiere el disacárido indigerible. Debido a que los hidratos de carbono se absorben principalmente en forma de monosacáridos, cualquier molécula de disacárido sin digerir pasa al intestino delgado, donde la presión osmótica extrae el agua de los tejidos de alrededor (diarrea). Las bacterias del colon digieren los disacáridos (fermentación), produciendo gas (hinchazón y retortijones). La deficiencia más común que se conoce es la *intolerancia a la lactosa*, que puede producirse en la mayoría de los adultos excepto en aquellos con antepasados del norte de Europa y de determinados grupos africanos. Se origina por la gran reducción de la síntesis de la enzima lactasa tras la infancia, la intolerancia a la lactosa se trata eliminando el azúcar de la alimentación o (en algunos casos) tratando los alimentos con la enzima lactasa.

FIGURA 7-25

Enlaces glucosídicos.

Entre los monosacáridos se pueden formar varios tipos de enlaces glucosídicos. El azúcar α-D-glucopiranosa (que se muestra a la izquierda) puede formar teóricamente enlaces glucosídicos con cualquiera de los grupos funcionales alcohólicos de otro monosacárido, en este caso otra molécula de α-D-glucopiranosa.

La **lactosa** (azúcar de la leche) es un disacárido que se encuentra en la leche. Está formado por una molécula de galactosa unida por el grupo hidroxilo del carbono 1 con un enlace β-glucosídico con el grupo hidroxilo del carbono 4 de una molécula de glucosa (Fig. 7.26). Como el carbono anomérico de la galactosa está en la configuración β, el enlace entre los dos monosacáridos se denomina $\beta(1,4)$. La incapacidad para hidrolizar el enlace $\beta(1,4)$ (producida por la deficiencia de lactasa) es común entre los animales, por lo que no pueden digerirse los hidratos de carbono con estos enlaces, como la celulosa. Debido a que el componente glucosa contiene un grupo hemiacetal, la lactosa es un azúcar reductor.

La **maltosa**, conocida también como azúcar de malta, es un producto intermediario de la hidrólisis del almidón y no parece existir en forma libre en la naturaleza. La maltosa es un disacárido con un enlace glucosídico $\alpha(1,4)$ entre dos moléculas de D-glucosa. En disolución, el carbono anomérico libre experimenta una mutarrotación, lo que da lugar a una mezcla de equilibrio de α y β maltosas (Fig. 7.27).

La **celobiosa**, un producto de degradación de la celulosa, contiene dos moléculas de glucosa ligadas por un enlace glucosídico $\beta(1,4)$ (Fig. 7.28). Como la maltosa, cuya estructura es idéntica, excepto por la dirección del enlace glucosídico, la celobiosa no existe en la naturaleza en forma libre.

La **sacarosa** (azúcar común de mesa: azúcar de caña o azúcar de remolacha) se produce en las hojas y raíces de las plantas. Es una fuente de energía que se transporta por toda la planta. La sacarosa, que contiene un residuo de α-glucosa y otro de β-fructosa, se diferencia de los azúcares descritos previamente en que los monosacáridos están unidos por un enlace glucosídico entre ambos carbonos anoméricos (Fig. 7.29). Dado que ninguno de los anillos de monosacárido puede revertir a la forma de cadena abierta, la sacarosa es un azúcar no reductor.

Los oligosacáridos son polímeros pequeños que se encuentran la mayor parte de las veces unidos a polipéptidos en glucoproteínas (págs. 225-228) y algunos glucolípidos (Capítulo 11). Entre los grupos oligosacáridos mejor caracterizados están aquellos unidos a membranas y proteínas secretoras que se encuentran en el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi de varias células. Existen dos clases de oligosacáridos: Ligados por N y ligados por O. Los oligosacáridos ligados por N están unidos a los polipéptidos por un enlace N-glucosídico con el grupo amida de la cadena lateral del aminoácido asparagina. Existen tres tipos principales de oligosacáridos unidos por asparagina: con manosa elevada, híbridos y complejos (Fig. 7.30). Los oligosacáridos ligados por O están unidos a polipéptidos por el grupo hidroxilo de la cadena lateral de los aminoácidos serina o treonina en las cadenas polipeptídicas o el grupo hidroxilo de los lípidos de la membrana.

α-Lactosa

β-Lactosa

FIGURA 7-26
α- y β-Lactosa.

α-Maltosa

β-Maltosa

FIGURA 7-27
α- y β-Maltosa.

FIGURA 7-28
β-Celobiosa.

FIGURA 7-29
Sacarosa.
Los residuos de glucosa y fructosa están unidos por un enlace glucosídico α, $\beta(1,2)$.

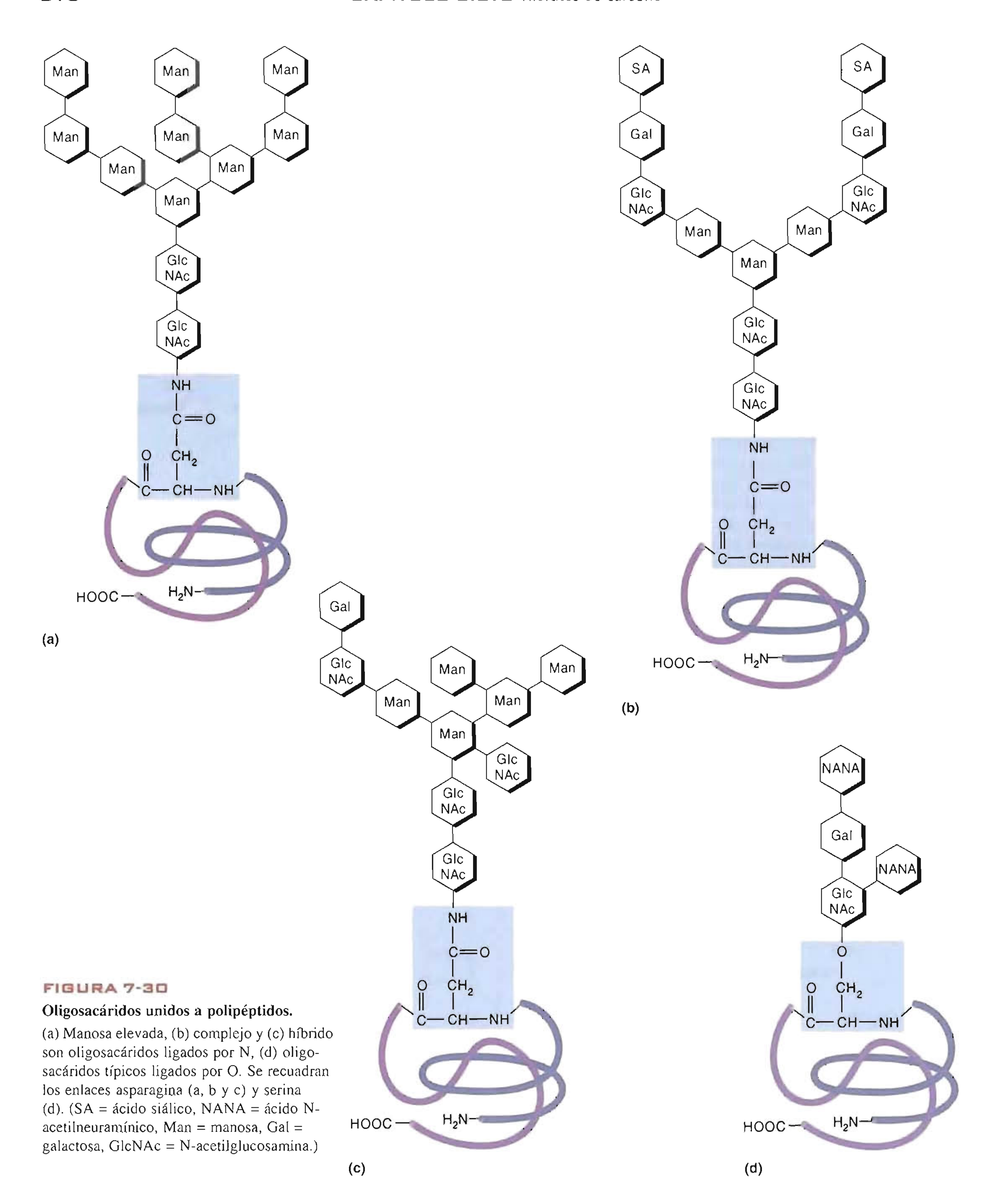


FIGURA 7-30

Oligosacáridos unidos a polipéptidos.

(a) Manosa elevada, (b) complejo y (c) híbrido son oligosacáridos ligados por N, (d) oligosacáridos típicos ligados por O. Se recuadran los enlaces asparagina (a, b y c) y serina (d). (SA = ácido siálico, NANA = ácido N-acetilneuramínico, Man = manosa, Gal = galactosa, GlcNAc = N-acetilglucosamina.)

PREGUNTA 7.7

¿Cuáles de los azúcares o derivados de azúcares siguientes son azúcares reductores?

(a) Glucosa.
(b) Fructosa.
(c) α-Metil-D-glucósido.
(d) Sacarosa.

¿Cuáles de los compuestos anteriores presentan mutarrotación?

7.3. POLISACÁRIDOS

CONCEPTOS CLAVE 7.3

Los disacáridos son glucósidos formados por dos unidades de monosacárido. La maltosa, la lactosa, la celobiosa y la sacarosa son ejemplos de disacáridos. Los oligosacáridos contienen de dos a diez unidades de monosacárido.

Las moléculas de polisacáridos se utilizan como formas de almacenamiento de energía o como materiales estructurales. Están formadas por un gran número de unidades de monosacárido unidos por enlaces glucosídicos. La mayoría de los polisacáridos comunes son moléculas grandes que contienen desde cientos hasta miles de unidades de azúcar. Estas moléculas pueden tener una estructura lineal, como la de la celulosa o la amilosa, o pueden tener formas ramificadas, como las que se encuentran en el glucógeno y la amilopectina. A diferencia de los ácidos nucleicos y las proteínas, que tienen pesos moleculares específicos, los pesos moleculares de muchos polisacáridos no tienen valores fijos. El tamaño de estas moléculas es un reflejo del estado metabólico de la célula que las produce. Por ejemplo, cuando las concentraciones de glucosa en sangre son elevadas (p. ej., después de una comida), el hígado sintetiza glucógeno. Las moléculas de glucógeno en un animal bien alimentado pueden tener pesos moleculares de hasta 2×10^7 D. Cuando la concentración de azúcar en sangre cae, las enzimas del hígado empiezan a degradar las moléculas de glucógeno, liberando la glucosa al torrente sanguíneo. Si el animal sigue ayunando, el proceso continúa hasta que las reservas de glucógeno están casi agotadas.

Los polisacáridos pueden dividirse en dos clases: *homopolisacáridos*, que están formados por un tipo de monosacárido, y *heteropolisacáridos*, que contienen dos o más tipos de monosacáridos.

Homopolisacáridos

Los homopolisacáridos, que se encuentran en abundancia en la naturaleza, son el almidón, el glucógeno, la celulosa y la quitina. El almidón, el glucógeno y la celulosa cuando se hidrolizan dan todos D-glucosa. El almidón y el glucógeno son moléculas de almacenamiento de glucosa de las plantas y los animales, respectivamente. La celulosa es el componente estructural principal de las células vegetales. La **quitina**, el componente estructural principal de los exoesqueletos de los artrópodos, como los insectos y los crustáceos, y de las paredes celulares de muchos hongos, produce cuando se hidroliza el derivado de glucosa N-acetil glucosamina.

ALMIDÓN El almidón, la reserva energética de las células, es una fuente significativa de hidratos de carbono en la alimentación humana. La mayor parte del valor nutritivo de los principales alimentos mundiales (p. ej., patatas, arroz, maíz y trigo) procede del almidón. En el almidón se encuentran juntos dos polisacáridos: amilosa y amilopectina.

La **amilosa** está formada por cadenas largas sin ramificar de residuos de D-glucosa que están unidos por enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ (Fig. 7.31). Varios polisacáridos, incluyendo ambos tipos de almidón, poseen un *extremo reductor* en el que el anillo puede abrirse para formar un grupo aldehído libre con propiedades reductoras. Los carbonos anoméricos internos de esas moléculas participan en enlaces acetal y no están libres para actuar como agentes reductores.

Las moléculas de amilosa, que generalmente contienen varios miles de residuos de glucosa, varían de peso molecular desde 150 000 a 600 000 D. Debido a que las moléculas lineales de amilosa forman largas hélices estiradas, su forma compacta es

FIGURA 7-31

Amilosa.

(a) Los residuos de D-glucosa de la amilosa están unidos a través de enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$. (b) El polímero amilosa forma una hélice a izquierdas.

(a) (b)

ideal para su función de almacenamiento. La prueba del yoduro para el almidón actúa debido a que el yodo molecular se inserta en estas hélices. (El color azul intenso de una prueba positiva procede de las interacciones electrónicas entre las moléculas de yodo y los residuos de glucosa de la hélice de la amilosa.) La otra forma de almidón, la **amilopectina**, es un polímero ramificado que contiene ambos enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$. Los puntos de ramificación $\alpha(1,6)$ pueden producirse cada 20-25 residuos de glucosa e impiden la formación de una hélice (Fig. 7.32a). El número de unidades de glucosa en la amilopectina puede variar desde unos pocos miles a un millón.

La digestión del almidón comienza en la boca, donde la enzima salival α-amilasa inicia la hidrólisis de los enlaces glucosídicos. La digestión continúa en el intestino delgado, donde la α-amilasa pancreática hidroliza al azar todos los enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$, excepto aquellos cercanos a los puntos de ramificación. Los productos de la α-amilasa son la maltosa, el trisacárido maltotriosa y las dextrinas límite (oligosacáridos que suelen contener ocho unidades de glucosa con uno o más puntos de ramificación $\alpha(1,6)$). Varias enzimas que segregan las células que recubren el intestino delgado convierten estos productos intermediarios en glucosa. Las moléculas de glucosa se absorben a continuación en las células intestinales. Tras pasar al torrente sanguíneo, son transportadas al hígado y luego al resto del cuerpo.

GLUCÓGENO El **glucógeno** es el hidrato de carbono de almacenamiento de energía de los vertebrados. Se encuentra abundantemente en las células hepáticas y musculares. (El glucógeno puede constituir hasta el 8-10 % del peso seco de las células hepáticas y el 2-3 % de las células musculares.) El glucógeno (Fig. 7.32b) tiene una estructura semejante a la de la amilopectina, excepto que tiene más puntos de ramificación, posiblemente cada cuatro residuos de glucosa en el centro de la molécula. En las regiones más externas de las moléculas de glucosa, los puntos de ramificación no están tan cercanos (aproximadamente cada 8-12 residuos). Debido a que la molécula es más compacta que otros polisacáridos, ocupa poco espacio, una característica importante en los cuerpos animales que se mueven. Los muchos extremos reductores de las moléculas de glucógeno permiten que la glucosa almacenada se movilice rápidamente cuando el animal demanda mucha energía.

PREGUNTA 7.8

Se ha calculado que para incorporar una molécula de glucosa en el glucógeno deben gastarse dos enlaces fosfato de energía elevada. ¿Por qué se almacena la glucosa en el músculo y el hígado en forma de glucógeno, y no como moléculas individuales de glucosa? En otras palabras, ¿por qué es ventajoso para la célula gastar energía metabólica para polimerizar las moléculas de glucosa? (*Pista*: Además de las razones que se dan anteriormente, véase el Capítulo 3 para comprobar otro problema que soluciona la polimerización de la glucosa.)

(a) (b)

Extremos no reductores

Cadena lateral

Enlace $\alpha(1,6)$ (punto de ramificación)

Extremo reductor

Enlace $\alpha(1,4)$

(c)

FIGURA 7-32

Amilopectina (a) y glucógeno (b).

Cada hexágono representa una molécula de glucosa. Obsérvese que cada molécula sólo tiene un extremo reductor (flecha) y numerosos extremos no reductores. (c) Detalle de (a) o (b).



CELULOSA La **celulosa** es un polímero formado por residuos de D-glucopiranosa unidos por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$ (Fig. 7.33). Es el polisacárido estructural más importante de las plantas. Debido a que la celulosa representa alrededor de un tercio de la biomasa de las plantas, es la sustancia orgánica más abundante de la tierra. Cada año se producen aproximadamente 100 billones de kg de celulosa.

Varios pares de moléculas de celulosa sin ramificar, que pueden contener hasta 12 000 unidades de glucosa cada una, se mantienen juntas por enlaces de hidrógeno para formar tiras en forma de láminas denominadas *microfibrillas* (Fig. 7.34). Cada haz de microfibrillas contiene aproximadamente 40 pares de éstos. Estas estructuras se encuentran en las paredes celulares primarias y secundarias de las plantas, donde proporcionan un marco estructural que protege y sostiene a las células.

La capacidad para digerir la celulosa sólo se encuentra en los microorganismos que poseen la enzima celulasa. Determinadas especies animales (p. ej., termitas y vacas) utilizan esos organismos en sus tubos digestivos para digerir la celulosa. La degradación de la celulosa hace disponible a la glucosa tanto para el microorganis-

FIGURA 7-33
Celulosa.

FIGURA 7-34
Microfibrillas de celulosa.
Los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre moléculas de celulosa adyacentes son, en gran medida, responsables de la gran fortaleza de la celulosa.

mo como para el hospedador. Aunque muchos animales no pueden digerir las plantas que contienen celulosa, estas sustancias desempeñan una función vital en la nutrición. La celulosa es uno de los productos vegetales que constituyen la fibra del alimento que actualmente se piensa es importante para una buena salud.

Debido a sus propiedades estructurales, la celulosa posee una importancia económica enorme. Los productos como la madera, el papel y los tejidos (p. ej., algodón, lino y ramina) deben muchas de sus características singulares a su contenido de celulosa.

QUITINA La estructura (Fig. 7.35) y función de la quitina son semejantes a las de la celulosa. Como con la celulosa, las unidades monoméricas (en este caso N-acetil-glucosamina) están unidas en cadenas sin ramificar por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$. Se forman microfibrillas a partir de las moléculas de quitina adyacentes que están unidas fuertemente por enlaces de hidrógeno. A diferencia de la celulosa, en la que las cadenas están dispuestas en haces paralelos, la quitina se encuentra en

FIGURA 7-35
Quitina.
La quitina está formada por residuos de N-acetilglucosamina.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.2. El lino

Los tejidos fibrosos vegetales son una incorporación relativamente reciente en la historia humana, aparentemente por razones tecnológicas. Antes de que nuestros antepasados aprendieran a hilar o tejer, descubrieron las plantas que contenían fibras útiles y la forma de extraer esas fibras. De acuerdo con las pruebas arqueológicas, una de las primeras plantas que se utilizaron por sus fibras fue el lino (*Linum usitatissimum*). Hace al menos 8000 años se tejían ya ropas de lino. El cultivo y el uso del lino está representado de forma muy elegante en los muros de las tumbas egipcias (Fig. 7B).

Las propiedades químicas de la celulosa contribuyen a las cualidades que hacen al lino un material tan atractivo (esto es, su suavidad, dureza y absorción de agua). Las esteras, que se encuentran en el líber (un componente del sistema vascular de las plantas) se utilizan para hacer el tejido de lino. Contienen paredes celulares más gruesas que las de la mayoría de los otros tejidos de la planta. Mediante un proceso químico que se denomina *enriar*, se recogen las esteras tras descomponer con bacterias el resto de la planta. Las esteras pueden soportar las numerosas reacciones químicas de descomposición debido a la gran cantidad de celulosa que hay en sus paredes celulares.



FIGURA 7B
Recolectando el lino.
De una pintura mural de la tumba de Sennedjem, Deir-el-Medina, veinte dinastía, alrededor de 1150 A.C.

tres tipos de microfibrillas unidas por enlaces de hidrógeno: α-quitina, β-quitina y γ-quitina. En la forma más abundante y estable, la α-quitina, las cadenas están colocadas en disposiciones antiparalelas. En las formas β y γ, más flexibles, las cadenas son paralelas o una mezcla de paralelas y antiparalelas, respectivamente.

Heteropolisacáridos

Los heteropolisacáridos son polímeros de hidratos de carbono de peso molecular elevado que contienen más de una clase de monosacárido. Entre los ejemplos importantes se encuentran los **glucosaminoglucanos** (GAG), los componentes principales de los proteoglucanos (Sección 7.4) y la mureína, un componente importante de las paredes de las células bacterianas.

GLUCOSAMINOGLUCANOS Los GAG son polímeros lineales con unidades repetitivas de disacáridos (Cuadro 7.1). Muchos de los residuos de azúcar son aminoderivados.

Las unidades repetitivas contienen un ácido hexurónico (un ácido urónico que contiene seis átomos de carbono), excepto el queratán sulfato, que contiene galactosa. Normalmente, también se encuentra presente una N-acetilhexosamina sulfato, excepto en el ácido hialurónico, que contiene N-acetilglucosamina. Muchas unidades disacárido contienen ambos grupos funcionales carboxilo y sulfato. Los GAG se clasifican de acuerdo con sus residuos de azúcar, los enlaces entre estos residuos, y la presencia y localización de los grupos sulfato. Se diferencian cinco clases: *ácido hialurónico*, *condroitín sulfato*, *dermatán sulfato*, *heparina* y *heparán sulfato* y *queratán sulfato*.

CUADRO 7-1

Unidades disacárido que se repiten en glucosaminoglucanos seleccionados

Nombre	Unidad repetida	Peso molecular (D)	Comentarios
Condroitín sulfato	Ácido (1,4)-O-β-D-glucopiranosilurónico(1,3)-2-acetamido-2-desoxi-6-O-sulfo-β-D-galactopiranosa	5000-50 000	Puede tener también sulfato en el carbono 6. Componente importante del cartílago.
Dermatán sulfato	Ácido (1,4)-O-α-L-idopiranosilurónico-(1,3)-2-acetamido-2-desoxi-4-O-sulfo-β-D-galactopiranosa	15 000-40 000	Pueden estar presentes cantidades variables de ácido D-glucurónico. La concentración aumenta durante el proceso de envejecimiento.
Heparina	Ácido (1,4)-O-α-D-glucopiranosilurónico-2-sulfo-(1,4)-2-sulfamido-2-desoxi-6-O-sulfo-α-D-glucopiranosa	6000-25 000	Actividad anticoagulante. Se encuentra en los mastocitos. Contiene también ácido D-glucurónico.
Queratán sulfato	(1,3)-O-β-D-Galactopiranosa-(1,4)-2-acetamido-2-desoxi-6-O-sulfo-β-D-glucopiranosa	4000-19 000	Constituyente menor de los proteoglucanos. Se encuentra en la córnea, el cartílago y los discos intervertebrales.
Ácido hialurónico	Ácido (1,4)-O-β-D-glucopiranosilurónico-(1,3)-2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosa	4000	GAG más abundante en el humor vítreo del ojo y el líquido sinovial de las articulaciones.

FIGURA 7-36
Unidad disacárido que se repite en la mureína (peptidoglucano).
(NAG = N-acetilglucosamina, NAN = ácido N-acetilmurámico).

A pH fisiológico los GAG tienen muchas cargas negativas. La repulsión de carga separa a los GAG unos de otros. Además, las cadenas polipeptídicas relativamente inflexibles son muy hidrófilas. Los GAG ocupan un enorme volumen con relación a su masa debido a que atraen grandes volúmenes de agua. Por ejemplo, el ácido hialurónico hidratado ocupa un volumen 1000 veces mayor que en su estado seco.

MUREÍNA La **mureína** (Fig. 7.36), también llamada peptidoglucano, es un polímero complejo que es la principal característica estructural de las paredes celulares de todas las bacterias. Contiene dos derivados de azúcar: N-acetil-glucosamina y ácido N-acetil murámico [N-acetil-glucosamina unida al ácido láctico ($CH_3CH(OH)COOH$) por un enlace éter], y varios aminoácidos diferentes (alguno de los cuales son isómeros D). La mureína consta de tres componentes básicos: un esqueleto formado por unidades disacárido repetidas unidas por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$, cadenas tetrapeptídicas paralelas, cada una de las cuales está unida al ácido N-acetil-murámico, y una serie de puentes cruzados peptídicos que se forman entre las cadenas tetrapeptídicas de los esqueletos polisacáridos paralelos (Fig. 7.37). La mureína es, en gran parte, responsable de la forma y la rigidez de las paredes celulares bacterianas.

CONCEPTOS CLAVE 7.4

Las moléculas de polisacárido, formadas por un gran número de unidades de monosacárido, se utilizan para almacenar energía y como materiales estructurales.

7.4. GLUCOCONJUGADOS

Los compuestos que se producen por enlaces covalentes entre moléculas de hidratos de carbono y proteínas y lípidos se denominan de forma genérica **glucoconjugados**. Estas sustancias tienen efectos profundos sobre la función de las células individuales, así como sobre las interacciones célula-célula de los organismos multicelulares. Existen dos clases de conjugados hidrato de carbono-proteína: proteoglucanos y glucoproteínas. Aunque ambos tipos moleculares contienen hidratos de carbono y proteínas, sus estructuras y funciones parecen, en general, ser sustancialmente diferentes. Los *glucolípidos*, que son oligosacáridos que contienen moléculas de lípidos, se encuentran predominantemente en la superficie externa de las membranas plasmáticas. Se deja para el Capítulo 11 la consideración de su estructura.

Proteoglucanos

Los **proteoglucanos** se distinguen de las glucoproteínas más comunes por su contenido muy elevado de hidratos de carbono, que pueden constituir hasta el 95 % del peso seco de estas moléculas. Estas moléculas se encuentran predominantemente en la matriz extracelular (material intercelular) de los tejidos. Todos los proteoglucanos contienen cadenas de GAG. Las cadenas de GAG están unidas a las moléculas proteicas (conocidas como *proteínas centrales*) por enlaces N u O glucosídicos. La

NAM NAG NAM

Tetra-péptido 1 2 3 4 (gly)$_5$

Estructura de peptidoglucano

Ácido lipoteicoico

Peptidoglucano (pared celular)

Membrana bicapa lipídica

Cubierta de polisacárido

FIGURA 7-37
Mureína (peptidoglucano).
La mureína es el principal elemento estructural de la pared celular de todas las bacterias. En esta figura se muestra la estructura de la pared celular de las células grampositivas. El ácido lipoteicoico es un glucolípido complejo. (NAG = N-acetilglucosamina, NAM = ácido N-acetilmurámico).

diversidad de los proteoglucanos es consecuencia del número de diferentes proteínas centrales y de la gran variedad de clases y longitudes de las cadenas de hidratos de carbono (Fig. 7.38).

Debido a que los proteoglucanos contienen grandes cantidades de GAG, que son polianiones, se atrapan dentro de su estructura cantidades grandes de agua y cationes. Las moléculas de proteoglucano ocupan miles de veces más espacio que las moléculas densamente empaquetadas de la misma masa. Los proteoglucanos contribuyen al soporte y elasticidad de los tejidos. Considere, por ejemplo, la fortaleza, flexibilidad y elasticidad del cartílago. La diversidad estructural de los proteoglucanos les permite desempeñar diversos cometidos estructurales y funcionales en los seres vivos. Juntos con las proteínas de la matriz como el colágeno, la fibronectina y la laminina, forman un entramado que proporciona resistencia y soporte a los tejidos multicelulares. Los proteoglucanos también están presentes en la superficie de las células, donde están unidos directamente a la membrana plasmática. Aunque no está clara la función de estas últimas moléculas, pueden desempeñar un papel importante en la estructura de la membrana y en las interacciones celulares.



Se han identificado varias enfermedades genéticas, conocidas como *mucopolisacaridosis*, asociadas con el metabolismo de los proteoglucanos. Debido a que los proteoglucanos se están sintetizando y degradando constantemente, su acumulación

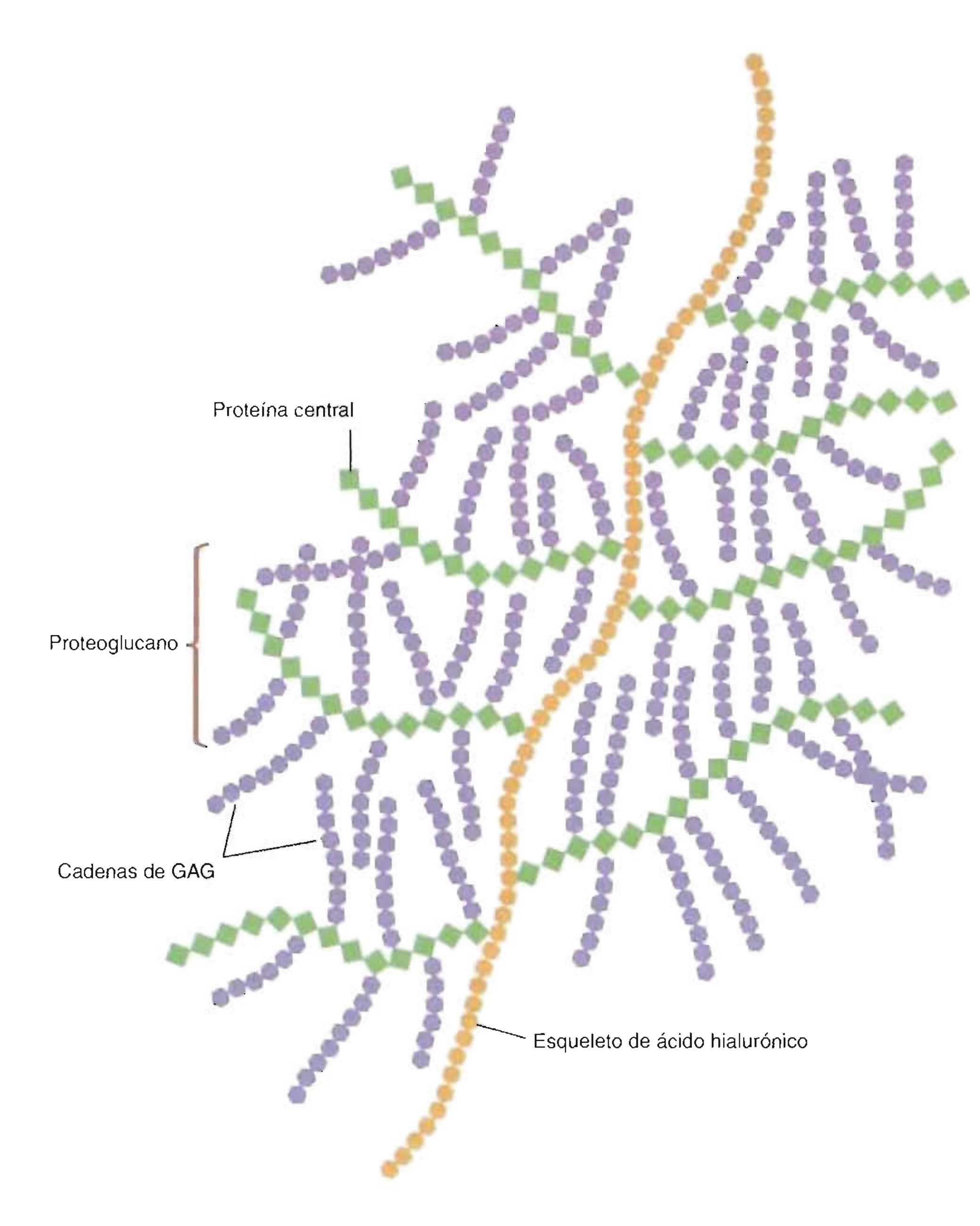


FIGURA 7-38
Proteoglucano.
Los agregados de proteoglucano se encuentran de forma característica en la matriz extracelular del tejido conjuntivo. La unión no covalente de cada proteoglucano al ácido hialurónico a través de la proteína central se realiza por medio de dos proteínas ligadoras (que no se muestran). Los proteoglucanos interaccionan con numerosas proteínas fibrosas de la matriz extracelular, como el colágeno, la elastina y la fibronectina (una proteína implicada en la adhesión celular).

excesiva (producida por la ausencia o la deficiencia de enzimas lisosómicas) tiene consecuencias graves. Por ejemplo, en el *síndrome de Hurler*, una enfermedad autosómica recesiva (una enfermedad en la que una copia del gen defectuoso se hereda de cada padre), la deficiencia de una enzima específica produce la acumulación de dermatán sulfato. Entre los síntomas se encuentran retraso mental, deformaciones del esqueleto y la muerte en la primera infancia.

Glucoproteínas

Las glucoproteínas se definen habitualmente como proteínas que están unidas de forma covalente a hidratos de carbono mediante enlaces N- u O-. La composición de hidratos de carbono de las glucoproteínas varía desde el 1 % a más del 85 % del peso total. Los hidratos de carbono que se encuentran son monosacáridos y disacáridos como los unidos a la proteína estructural colágeno y oligosacáridos ramificados sobre las glucoproteínas plasmáticas. Aunque a veces se considera que las glucoproteínas incluyen a los proteoglucanos, las razones estructurales parecen ser suficien-

tes para considerarlas de forma separada, como la ausencia relativa en las glucoproteínas de ácidos urónicos, grupos sulfato y unidades disacárido repetidas que son características de los proteoglucanos.

Los grupos hidrato de carbono de las glucoproteínas están unidos al polipéptido mediante (1) un enlace glucosídico N entre la N-acetilglucosamina (GlcNAc) y el aminoácido asparagina (Asn), o (2) un enlace O-glucosídico entre la N-acetilgalactosamina (GalNAc) y el grupo hidroxilo del aminoácido serina (Ser) o treonina (Thr). La primera clase de glucoproteínas se denomina *ligadas por asparagina* y la última clase se denomina de *tipo mucina*.

HIDRATOS DE CARBONO UNIDOS POR ASPARAGINA Como se ha mencionado, en las glucoproteínas se encuentran tres formas de oligosacáridos unidos por asparagina: con manosa elevada, complejos e híbridos. El *tipo de manosa elevada* está formado por GlcNAc y manosa. El *tipo complejo* puede contener fucosa, galactosa y ácido siálico, además de GlcNAc y manosa. Los oligosacáridos de *tipo híbrido* contienen características de los tipos complejo y de manosa elevada (véase la Fig. 7.30). A pesar de estas diferencias, el centro de todos los oligosacáridos ligados por N es el mismo. Este centro, que está construido sobre una molécula de lípido unida a la membrana, está unido de forma covalente a la asparagina durante la síntesis de proteínas (Capítulo 19). Varias reacciones adicionales, en la luz del retículo endoplásmico y el complejo de Golgi, forman las estructuras de los oligosacáridos ligados por N.

HIDRATOS DE CARBONO DE TIPO MUCINA Aunque todos los oligosacáridos ligados por N están unidos a proteínas a través de GlcNAc-Asn, los grupos de unión de los oligosacáridos O-glucosídicos son de varios tipos. El más común de éstos es GalNAc-Ser (o GalNAc-Thr). Las unidades hidrato de carbono del tipo mucina varían considerablemente de tamaño y estructura desde los disacáridos como Gal-1,3-GalNAc, que se encuentra en la glucoproteína anticongelante de los peces antárticos (Fig. 7.39) a los oligosacáridos complejos de los grupos sanguíneos como los del sistema ABO.

FUNCIONES DE LAS GLUCOPROTEÍNAS Las glucoproteínas son un grupo diverso de moléculas que son constituyentes ubicuos de la mayoría de los seres vivos (Cuadro 7.2). Se encuentran en las células en formas solubles y unidas a la membrana, y en los líquidos extracelulares. Los animales vertebrados poseen particularmente abundantes glucoproteínas. Entre estas sustancias se encuentran las proteínas transportadoras de metales transferrina y ceruloplasmina, los factores de la coagulación de la sangre y muchos de los componentes del complemento (proteínas que participan en la destrucción celular durante las reacciones inmunitarias). Varias hormonas (sustancias químicas producidas por determinadas células que son trans-

FIGURA 7-39

Glucoproteína anticongelante.

Este segmento es una unidad gluco-tripéptido recurrente. Cada unidad disacárido, formada por residuos de galactosa y N-acetilgalactosamina unidos por enlaces $\beta(1,3)$, está unida a la cadena polipeptídica por un enlace glucosídico a un residuo de treonina.

CUADRO 7-2
Glucoproteínas

Tipo	Ejemplo	Fuente	Peso molecular (D)	Porcentaje de hidrato de carbono
Enzima	Ribonucleasa B	Bovino	14 700	8
Inmunoglobulina	IgA	Humana	160 000	7
	IgM	Humana	950 000	10
Hormona	Gonadotropina coriónica	Placenta humana	38 000	31
	FSH	Humana	34 000	20
Proteína de membrana	Glucoforina	Eritrocitos humanos	31 000	60
Lectina (proteínas que unen hidratos de carbono)	Lectina de patata	Patata	50 000	50

portadas por la sangre hasta otras células donde ejercen efectos reguladores) son glucoproteínas. Considere, por ejemplo, la hormona estimulante de los folículos (FSH), producida por la glándula hipófisis anterior. La FSH estimula el desarrollo del óvulo y el espermatozoide. Además, muchas enzimas son glucoproteínas. Un ejemplo muy estudiado es la ribonucleasa (RNasa), la enzima que degrada el ácido ribonucleico. Otras glucoproteínas son proteínas integrales de membrana (Capítulo 11). De éstas, son ejemplos especialmente interesantes la Na^+-K^+-ATPasa (una bomba iónica que se encuentra en la membrana plasmática de las células animales) y los antígenos principales de histocompatibilidad (marcadores celulares de superficie que se utilizan para la compatibilidad de donantes y receptores de órganos).

Aunque se han estudiado muchas glucoproteínas, aún no se entiende con claridad la función de los hidratos de carbono. A pesar de los problemas técnicos, se han realizado avances para discernir la forma en la que los hidratos de carbono contribuyen a la actividad biológica. La investigación más reciente se ha centrado en la forma en que los hidratos de carbono estabilizan las moléculas proteicas y actúan en los procesos de reconocimiento en los organismos multicelulares.

La presencia de los hidratos de carbono en las moléculas proteicas las protege de la desnaturalización. Por ejemplo, la RNasa A bovina es más susceptible a la desnaturalización por calor que su equivalente, la RNasa B glucosilada. Otros estudios han demostrado que las glucoproteínas con azúcares abundantes son relativamente resistentes a la proteólisis (desdoblamiento de los polipéptidos por reacciones hidrolíticas catalizadas por enzimas). Debido a que los hidratos de carbono se encuentran en la superficie de la molécula, deben proteger a la cadena polipeptídica de las enzimas proteolíticas.

En las glucoproteínas los hidratos de carbono parecen afectar a la función biológica. En algunas glucoproteínas esta contribución se entiende mejor que en otras. Por ejemplo, un contenido elevado de residuos de ácido siálico es responsable de la viscosidad elevada de las mucinas salivales (las proteínas lubricantes de la saliva). Otro ejemplo interesante son las glucoproteínas anticongelantes de los peces antárticos. Aparentemente, sus residuos de disacárido forman enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua. Este proceso retarda el crecimiento de los cristales de hielo.

Las glucoproteínas son importantes en fenómenos complejos de reconocimiento, como las interacciones célula-molécula, célula-virus y célula-célula. Entre los ejemplos más importantes de participación de las glucoproteínas en las interacciones célula-molécula se encuentra el receptor de insulina, cuya unión a la insulina facilita el transporte de glucosa dentro de numerosos tipos celulares. Lo realiza, en parte, reclutando los transportadores de glucosa hacia la membrana plasmática. Además, el transportador de glucosa, que es responsable directo del transporte del azúcar al interior de las células, también es una glucoproteína. La interacción entre la gp120,

la glucoproteína de unión de la célula diana del VIH (el virus del SIDA) y las células hospedadoras es un ejemplo fascinante de interacción célula-virus. La unión de la gp120 al receptor CD4 que se encuentra en la superficie de varios tipos celulares humanos se considera en la actualidad que es un primer paso en el proceso infeccioso. La eliminación del hidrato de carbono de la gp120 purificada reduce significativamente la unión de la proteína del virus al receptor CD4. Paradójicamente, los oligosacáridos unidos a la glucoproteína de la superficie del virus de la estomatitis vesicular no son necesarios para la infectividad del virus.

Las glucoproteínas de la estructura celular, componentes del *glucocáliz* (conocido también como *cubierta celular*), se reconocen en la actualidad como participantes en la adhesión celular. Este proceso es un acontecimiento crítico en las interacciones célula-célula del crecimiento y la diferenciación (Fig. 7.40). La mejor caracterizada de estas sustancias se denomina molécula de adhesión celular (CAM). Se piensa que las CAM participan en el desarrollo embrionario del sistema nervioso del ratón. Se ha demostrado que en este fenómeno son importantes los residuos de ácido siálico de los oligosacáridos ligados por N de varias CAM.

Las mejoras recientes de la tecnología han conducido a un aumento de la apreciación de la importancia de los hidratos de carbono en las glucoproteínas. Consecuentemente, existe actualmente un creciente interés es el estudio de los patrones de glucosilación celular. La estructura de los hidratos de carbono se utiliza en la actualidad para investigar los procesos normales como el desarrollo nervioso y determinados procesos de enfermedad. Por ejemplo, las variaciones del contenido de galactosa de la clase IgG de anticuerpos están directamente relacionadas con la gravedad (es decir, el grado de inflamación) de la artritis juvenil. Además, las pruebas más recientes indican que los cambios de los patrones de glucosilación acompañan a los cambios del comportamiento de las células cancerosas. Este conocimiento está haciendo más accesible a la investigación la detección del tumor y el proceso metastásico (la diseminación de las células cancerosas de un tumor a otras partes del cuerpo). El papel de los glucoconjugados en los procesos vivos se explora con más detalle en el Recuadro de Interés Especial 7.3.

CONCEPTOS CLAVE 7.5

Los glucoconjugados son biomoléculas en las que los hidratos de carbono están unidos de forma covalente a proteínas o lípidos. Los proteoglucanos están formados por cantidades relativamente grandes de hidratos de carbono (unidades GAG) unidas de forma covalente a pequeños componentes polipeptídicos. Las glucoproteínas son proteínas ligadas covalentemente a hidratos de carbono a través de enlaces N- u O-.

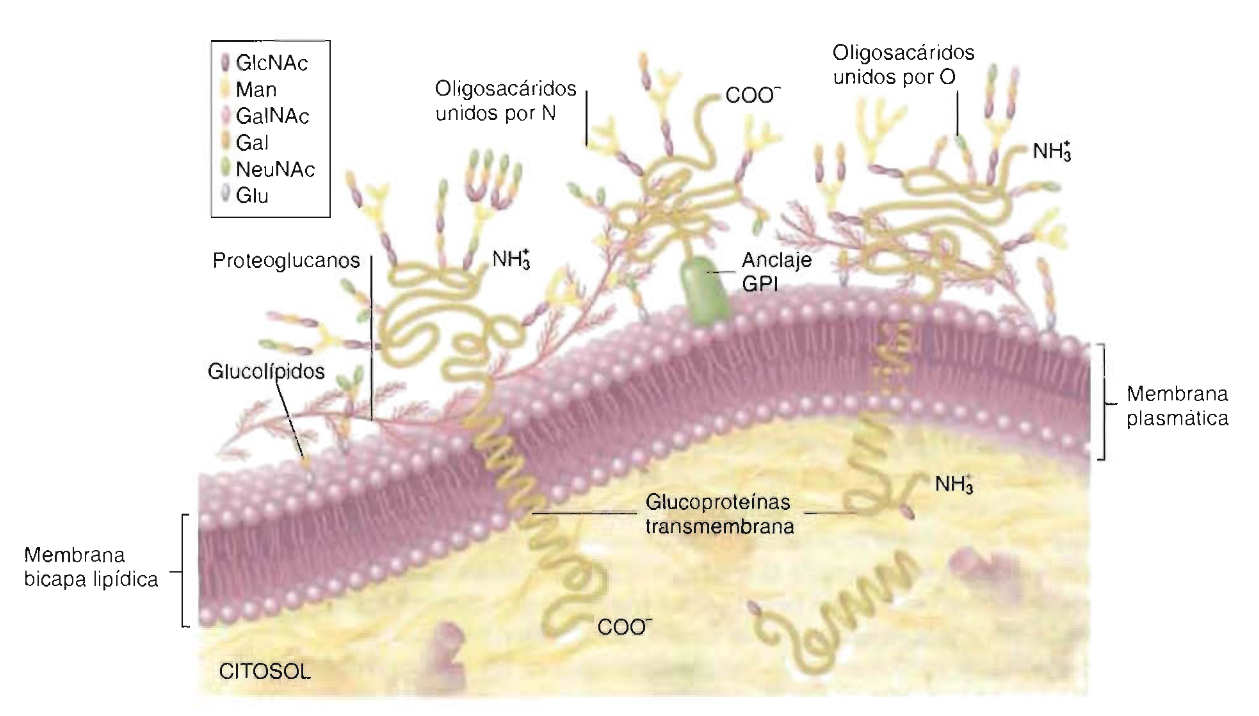


FIGURA 7-40

Glucocáliz.

Un anclaje GPI (glucosilfosfatidil inositol) es una estructura especializada que une varias clases de oligosacáridos a la membrana plasmática de algunas células eucariotas.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 7.3. Información biológica y código de azúcar

La transferencia de información biológica se produce cuando se une una molécula, habitualmente una proteína, a otra molécula con una forma complementaria, produciéndose un cambio de las conformaciones tridimensionales de ambas. Las complejas rutas de señalización que actúan en los procesos biológicos son posibles por la transferencia en serie de la información; es decir, la información se transfiere desde una molécula a otra con objeto de obtener un resultado específico. Por ejemplo, en un proceso denominado *quimiotaxia*, una célula móvil, como la bacteria *E. coli*, detecta una molécula determinada de nutriente cuando esta última se une a un receptor de la membrana plasmática. Una vez que el ligando ha activado el receptor, la señal se transfiere a través de la membrana celular mediante cambios conformacionales. Se inicia entonces una cascada rápida de reacciones intracelulares que altera la dirección de giro de los flagelos motores, de forma que la bacteria puede moverse eficazmente hacia concentraciones mayores del nutriente. Los seres vivos requieren capacidades de codificación extraordinariamente grandes debido a que cada transferencia de información, ya sea la conversión de un sustrato en producto dentro del lugar activo de una enzima, la transducción de una señal hormonal o la fagocitosis de una célula bacteriana por un macrófago, se inicia por la unión específica de una única molécula con otra que se ha seleccionado de entre millones de otras moléculas próximas. En otras palabras, el funcionamiento de sistemas tan complejos como los seres vivos requiere un repertorio igualmente grande de códigos moleculares. Para que sea eficaz un mecanismo codificador, la clase de moléculas debe poseer una gran capacidad de variaciones de forma, debido al número tremendo de mensajes diferentes que deben descifrarse rápidamente y sin ambigüedad. Recuerde, por ejemplo, que la enorme diversidad de proteínas que se observa en los seres vivos está formada por sólo 20 aminoácidos. El número total de hexapéptidos que pueden sintetizarse a partir de estos aminoácidos representa la impresionante cifra de 6.4×10^7. A pesar de su reputación mantenida durante mucho tiempo de ser estructuras repetitivas con poca capacidad de información, como el glucógeno y la celulosa, los hidratos de carbono, como clase de biomoléculas, poseen propiedades estructurales (p. ej., variaciones de los enlaces glucosídicos, ramificación, e isómeros anoméricos) que los proporcionan una capacidad de codificación significativa. A diferencia de los enlaces peptídicos que se forman exclusivamente entre los grupos amino y carboxilo de los residuos de aminoácido para crear una molécula peptídica lineal, los enlaces glucosídicos entre los monosacáridos pueden ser considerablemente más variables. Por consiguiente, el potencial número de permutaciones en los oligosacáridos es sustancialmente mayor que el de los péptidos. Por ejemplo, el número total de hexasacáridos lineales y ramificados que pueden formarse a partir de 20 monosacáridos sencillos o modificados es 1.44×10^{15}.

Una vez codificada la información, ésta debe traducirse. La traducción del código de azúcar la realizan las lectinas. Las **lectinas** son proteínas que se unen a los hidratos de carbono, y que no son anticuerpos ni tienen actividad enzimática. Se descubrieron originalmente en los vegetales y actualmente se sabe que existen en todos los organismos. Las lectinas, que normalmente están formadas por dos o cuatro subunidades, poseen dominios de reconocimiento que se unen a grupos específicos de hidratos de carbono a través de enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrófobas. Entre los procesos biológicos con unión de lectinas se encuentran muchas interacciones célula-célula (Fig. 7C). Entre los ejemplos más destacados están las infecciones por muchos microorganismos, los mecanismos de muchas toxinas y los procesos fisiológicos como el rodaje leucocitario. A continuación se describen brevemente las características esenciales de cada uno de ellos.

La infección por muchas bacterias se inicia cuando éstas se fijan con fuerza a las células hospedadoras. Con frecuencia, la fijación se realiza a través de la unión de lectinas bacterianas a oligosacáridos de la superficie celular. *Helicobacter pylori*, el agente causal de la gastritis y las úlceras de estómago, posee varias lectinas que le permiten establecer una infección crónica en el revestimiento mucoso del estómago. Una de estas lectinas se une con afinidad elevada a una porción del determinante del grupo sanguíneo O, un oligosacárido, una circunstancia que explica la observación de que las personas con el grupo sanguíneo O tienen un riesgo considerablemente mayor de padecer úlceras que los que tienen otros grupos sanguíneos. Sin embargo, los que tienen los grupos A o B no son inmunes a la infección debido a que la bacteria utiliza también otras lectinas para conseguir la adhesión.

Los efectos lesivos de muchas toxinas bacterianas sólo se producen tras la endocitosis dentro de la célula hospedadora, un proceso que se inicia por la unión de la lectina al ligando. La unión de la subunidad B de la toxina del cólera (Recuadro de Interés Especial 5.1) a un glucolípido de la superficie de las células intestinales da lugar a la captura de la subunidad A tóxica. Una vez que la subunidad A se ha internalizado comienza a degradar el mecanismo que regula el transporte de cloruro, un proceso que conduce a una diarrea potencialmente mortal.

El rodaje leucocitario es un ejemplo bien conocido de interacción célula-célula a través de la unión de una lectina. Cuando se daña un tejido en un animal, ya sea por una infección con un microorganismo patógeno o por un traumatismo físico, el tejido dañado emite moléculas señalizadoras que crean una inflamación. Para responder a estas moléculas las células endoteliales que revisten los vasos sanguíneos cercanos producen e insertan dentro de sus membranas plasmáticas una proteína denominada selectina. Las selectinas son una familia de lectinas que actúan como moléculas de adhesión celular. Una vez expuesta la selectina sobre la superficie de las células endoteliales, ésta se une de forma transitoria al ligando de la selectina (un oligosacárido) sobre los leucocitos como los neutrófilos. Esta unión relativamente débil sirve para hacer más lento el rápido movimiento de los neutrófilos en su flujo por la sangre de forma que parecen rodar a lo largo de la superficie luminal del vaso sanguíneo. Una vez iniciado el rodaje, al acercarse los leucocitos

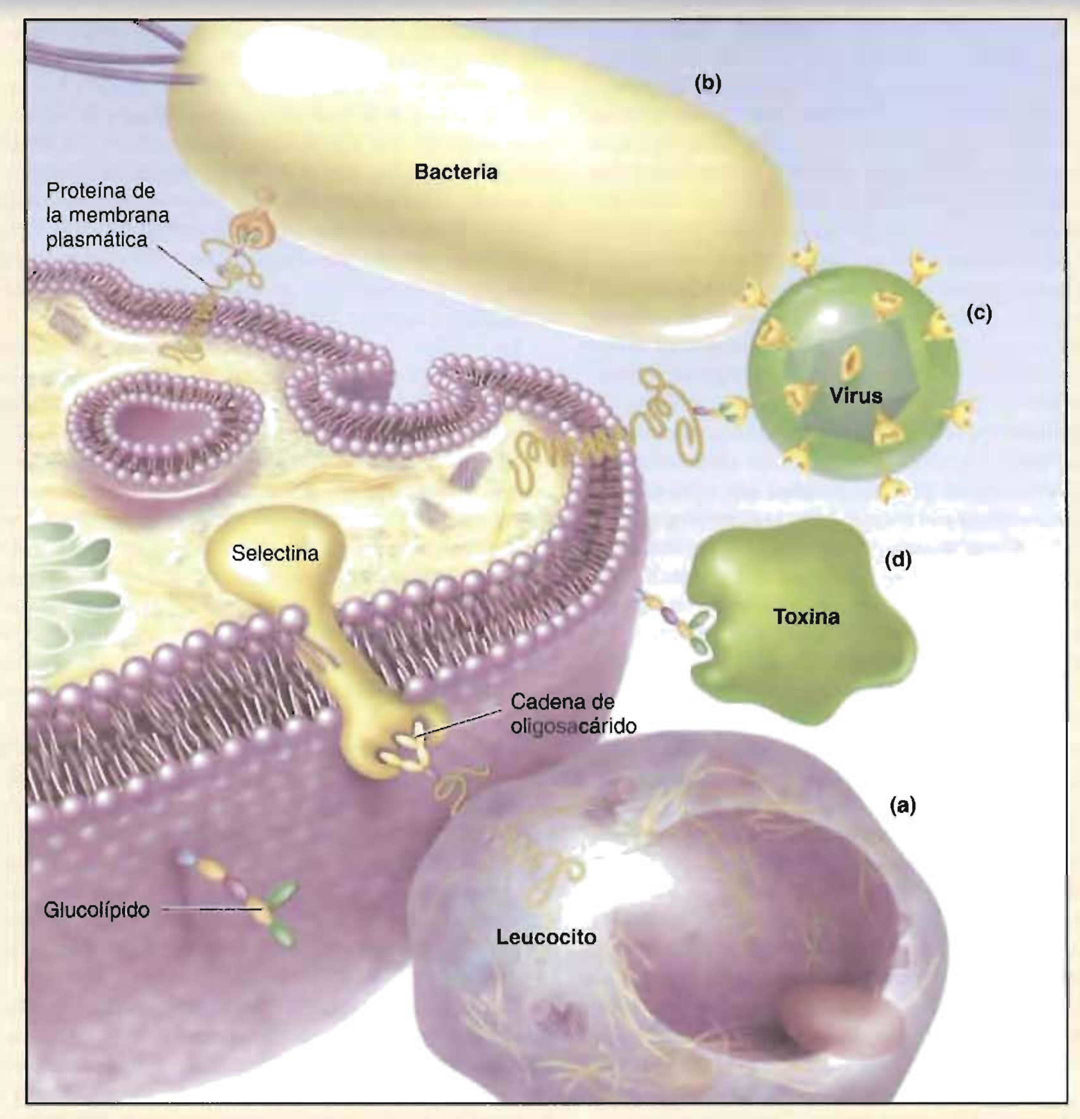


FIGURA 7C

Papel de los oligosacáridos en el reconocimiento biológico.

La unión específica de lectinas (proteínas que unen hidratos de carbono) a los grupos oligosacárido (óvalos coloreados) de las moléculas de glucoconjugados es una característica esencial de muchos fenómenos biológicos. (a) Interacciones célula-célula (p. ej., rodar de leucocitos), (b y c) infeciones celulares por patógenos y (d) unión de toxinas (p. ej., toxina del cólera) a las células.

hacia el lugar de la inflamación se encuentran con otras moléculas señalizadoras que hace que expresen sobre su superficie otra lectina denominada *integrina*. La unión de la integrina con su ligando oligosacárido sobre la superficie endotelial del vaso sanguíneo detiene el rodaje de los neutrófilos. Por consiguiente, los neutrófilos experimentan cambios que los permiten apretarse entre las células del endotelio y migrar al lugar infectado, donde consumen y degradan a las bacterias y a los residuos celulares.

RESUMEN

1. Los hidratos de carbono, las moléculas orgánicas más abundantes de la naturaleza, se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, de acuerdo con el número de unidades de azúcar sencillo que contienen. Los hidratos de carbono también se encuentran como partes componentes de otras biomoléculas. Los glucoconjugados son moléculas de proteínas y lípidos con grupos hidratos de carbono unidos covalentemente. Entre ellos están proteoglucanos, glucoproteínas y glucolípidos.
2. Los monosacáridos con un grupo funcional aldehído se denominan aldosas, y los que tienen un grupo cetona se conocen como cetosas. Los azúcares sencillos pertenecen a la familia D o L cuando la configuración del carbono asimétrico más alejado del grupo aldehído o cetona se asemeja al isómero D o L del gliceraldehído. La familia D contiene los azúcares de mayor importancia biológica.
3. Los azúcares que contienen cinco o seis carbonos se encuentran en formas cíclicas que se producen por reacciones entre los grupos hidroxilo y el grupo aldehído (producto hemiacetal) o el grupo cetona (producto hemicetal). En ambos anillos de cinco miembros (furanosas) o seis miembros (piranosas), el grupo hidroxilo unido al carbono anomérico se sitúa por debajo (α) o por encima (β) del plano del anillo. Se denomina mutarrotación a la interconversión espontánea entre las formas α y β.
4. Los azúcares sencillos experimentan diversas reacciones químicas. Los derivados de estas moléculas, como los ácidos urónicos, los aminoazúcares, los desoxiazúcares y los azúcares fosforilados, poseen funciones importantes en el metabolismo celular.
5. Los hemiacetales y los hemicetales reaccionan con alcoholes para formar acetales y cetales, respectivamente. Cuando las formas hemiacetal o hemicetal cíclicas de un monosacárido reaccionan con un alcohol, el nuevo enlace se denomina enlace glucosídico y el compuesto se llama glucósido.
6. Los enlaces glucosídicos se forman entre el carbono anomérico de un monosacárido y uno de los grupos hidroxilo libres de otro monosacárido. Los disacáridos son hidratos de carbono formados por dos monosacáridos. Los oligosacáridos, los hidratos de carbono que contienen hasta 10 unidades monosacárido, se suelen encontrar unidos a proteínas y lípidos. Las moléculas de polisacárido, que están formadas por un gran número de unidades monosacárido, pueden tener estructuras lineales, como la celulosa y la amilosa, o una estructura ramificada, como el glucógeno y la amilopectina. Los polisacáridos pueden constar de un solo tipo de azúcar (homopolisacáridos) o de varios tipos (heteropolisacáridos).
7. Cuando se hidrolizan los tres homopolisacáridos más comunes que se encuentran en la naturaleza (almidón, glucógeno y celulosa) dan todos D-glucosa. La celulosa es un material estructural de los vegetales; el almidón y el glucógeno son formas de almacenamiento en las células vegetales y animales, respectivamente. La quitina, el material estructural principal de los exoesqueletos de los insectos, está formada por residuos de N-acetil-glucosamina unidos en cadenas sin ramificar. Los glucosaminoglucanos, los componentes principales de los proteoglucanos, y la mureína, un componente importante de las paredes celulares bacterianas, son ejemplos de heteropolisacáridos, polímeros de hidratos de carbono que contienen más de una clase de mososacárido.
8. La heterogeneidad enorme de los proteoglucanos, que se encuentran predominantemente en la matriz extracelular de los tejidos, los permite desempeñar diversas funciones, aún mal entendidas, en los seres vivos. Las glucoproteínas se encuentran en las células en formas solubles y unidas a membranas, y en los líquidos extracelulares. Debido a sus estructuras diversas, los glucoconjugados, entre los que se encuentran los proteoglucanos, las glucoproteínas y los glucolípidos desempeñan papeles importantes en la transferencia de información en los seres vivos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Dwek, R.A., Glycobiology: More Functions for Oligosacharides, *Science*, 269:1234-1235, 1995.

Gabius, H.J., Biological Information Transfer Beyond the Genetic Code: The Sugar Code, *Natur Wissenschaften*, 87(3):108-121, 2000.

Lehmann, J., *Carbohydrates: Structure and Biology*, Thieme, New York, 1998.

Robyt, J.F., *Essentials of Carbohydrate Chemistry*, Springer, New York, 1998.

Ruoslahti, E., Structure and Biology of Proteoglycans, *Ann. Rev. Cell Biol.*, 4:229-255, 1988.

Sharon, N., Carbohydrates, *Sci. Amer.*, 243(5):90-116, 1980.

Sharon, N., and Halina, L., Carbohydrates in Cell Recognition, *Sci. Amer.*, 268(1):82-86, 1993.

Yeh, O., and Feeney, R.E., Antifreeze Proteins: Structures and Mechanisms of Function, *Chem. Rev.*, 96:601-617, 1996.

PALABRAS CLAVE

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Escriba las estructuras de Haworth de los siguientes compuestos:
   a. α-D-glucopiranosa y β-D-glucofuranosa
   b. sacarosa
   c. D-lactosa
   d. ácido siálico
   e. forma piranosa de la D-manosa
   f. condroitín sulfato, unidad repetida
2. Dé un ejemplo de cada uno de los compuestos o estructuras siguientes:
   a. epímero
   b enlace glucosídico
   c. azúcar reductor
   d. monosacárido
   e. anómero
   f. diastereómero
3. ¿Qué relación estructural está indicada por el término azúcar D-? ¿Por qué la (+) glucosa y la (−) fructosa se clasifican ambas como azúcares D-?
4. Nombre un ejemplo de cada una de las siguientes clases de compuestos:
   a. glucoproteína
   b. proteoglucano
   c. disacárido
   d. glucosaminoglucano
5. ¿Cuál es la diferencia entre un heteropolisacárido y un homopolisacárido? Dé algunos ejemplos.
6. Convierta cada una de las siguientes representaciones de Fischer en una fórmula de Haworth:

```
a.                b.                c.
    O                 O                 O
    ‖                 ‖                 ‖
    CH                CH                CH
    |                 |                 |
 H—C—OH           HO—C—H             H—C—OH
    |                 |                 |
HO—C—H            HO—C—H            HO—C—H
    |                 |                 |
 H—C—OH            H—C—OH           HO—C—H
    |                 |                 |
    CH2OH          H—C—OH            H—C—OH
                      |                 |
                      CH2OH             CH2OH
```

7. ¿Cuáles de los siguientes hidratos de carbono son reductores y cuáles son no reductores?
   a. almidón
   b. celulosa
   c. fructosa
   d. sacarosa
   e. ribosa
8. ¿Qué diferencias estructurales caracterizan al almidón, la celulosa y el glucógeno?
9. ¿Qué forma suelen tener las cadenas de hidratos de carbono ligadas por enlaces glucosídicos α(1,4)?
10. Determine el número de estereoisómeros posibles para los siguientes compuestos:

```
                      CH2OH
                      |
    CH2OH             C=O
    |                 |
    C=O           HO—C—H
    |                 |
 H—C—OH            H—C—OH
    |                 |
 H—C—OH            H—C—OH
    |                 |
    CH2OH          H—C—OH
                      |
                      CH2OH
```

Ribulosa **Sedoheptulosa**

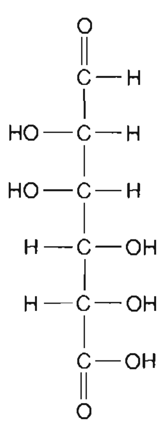
11. La rafinosa es el trisacárido más abundante de la naturaleza.

a. Nombre las tres unidades monosacárido de la rafinosa.
b. Existen dos enlaces glucosídicos. ¿Son α o β?
c. ¿Es la rafinosa un azúcar reductor o no reductor?
d. ¿Es la rafinosa capaz de mutarrotación?

12. Proporcione al menos una función para cada uno de los compuestos siguientes:
    a. glucógeno
    b. glucosaminoglucanos
    c. glucoconjugados
    d. proteoglucanos
    e. glucoproteínas
    f. polisacáridos
13. Las cadenas de polímeros de los glucosaminoglucanos están muy separadas y unen grandes cantidades de agua.
    a. ¿Cuál de los dos grupos funcionales del polímero hace posible esta unión del agua?
    b. ¿Qué tipo de enlace participa?
14. En las glucoproteínas, ¿Cuáles son los tres aminoácidos a los que se unen con mayor frecuencia los grupos hidratos de carbono?
15. Las cadenas de condroitín sulfato se han comparado con grandes redes de pesca, donde pasan a través de su matriz las moléculas pequeñas y se excluyen las grandes. Utilice la estructura del condroitín sulfato y de los proteoglucanos para explicar esta analogía.
16. Defina al término *azúcar reductor*. ¿Qué característica estructural tienen los azúcares reductores?
17. Compare las estructuras de los proteoglucanos y las glucoproteínas. ¿Cómo están relacionadas las diferencias estructurales con sus funciones?
18. ¿Qué papel se piensa desempeñan los hidratos de carbono en el mantenimiento de la estabilidad de las glucoproteínas?
19. ¿En qué se diferencia la estructura de la celulosa de la del almidón y el glucógeno?
20. Determine cuáles de los siguientes pares de azúcares son enantiómeros, diastereómeros, epímeros o par aldosa-cetosa.
    a. D-eritrosa y D-treosa
    b. D-glucosa y D-manosa
    c. D-ribosa y L-ribosa
    d. D-alosa y D-galactosa
    e. D-gliceraldehído y dihidroxiacetona

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. La β-galactosidasa es una enzima que sólo hidroliza enlaces $\beta(1,4)$ de la lactosa. Un trisacárido desconocido se convierte por acción de la β-galactosidasa en maltosa y galactosa. Dibuje la estructura del trisacárido.
2. Los esteroides son grandes moléculas liposolubles, policíclicas complejas, muy insolubles en agua. La reacción con ácido glucurónico hace a los esteroides más hidrosolubles y permite su transporte en la sangre. ¿Qué característica estructural del ácido glucurónico aumenta la solubilidad?
3. Muchas bacterias están rodeadas por una cubierta de proteoglucano. Utilice sus conocimientos sobre las propiedades de esta sustancia para sugerir una función para esa cubierta.
4. Desde hace tiempo se sabe que la leche de pecho protege a los niños de las enfermedades infecciosas, especialmente de las que afectan al tubo digestivo. La principal razón de esta protección parece ser un gran grupo de oligosacáridos componentes de la leche humana. Sugiera y razone el efecto protector de estos oligosacáridos. (*Pista*: Recuerde que el daño que ocasionan muchos organismos patógenos y toxinas se inicia cuando se adhieren a las células diana a través de la unión de glucoconjugados y lectinas.)
5. El ácido algínico, que se aísla de las algas marinas y se utiliza como agente espesante para los helados y otros alimentos, es un polímero de ácido D-manurónico con enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$.
    a. Dibuje la estructura del ácido algínico.
    b. ¿Por qué actúa esta sustancia como agente espesante?



Ácido D-manurónico

6. ¿Cuál es el número máximo de estereoisómeros del ácido manurónico?
7. Un polisacárido se encuentra en las conchas de los artrópodos (p. ej., langostas y saltamontes) y de los moluscos (p. ej., ostras y caracoles). Puede obtenerse de estas fuentes agitando las conchas el ácido clorhídrico frío diluido para disolver el carbonato cálcico. La sustancia con hebras que se forma está formada por cadenas lineales largas. La hidrólisis con ácido hirviente produce D-glucosamina y ácido acético en cantidades equimolares. La hidrólisis enzimática más suave produce N-acetil-D-glucosamina como único producto. Los enlaces del polisacárido son idénticos a los de la celulosa. ¿Cuál es la estructura de este polímero?
8. Los proteoglucanos se agregan en los tejidos para formar geles viscosos hidratados. ¿Puede sugerir una razón mecánica obvia por la que la capacidad para formar geles sea importante para la función celular? (*Pista*: El agua líquida es virtualmente no comprimible.)

CAPÍTULO OCHO

Metabolismo de los hidratos de carbono

SUMARIO



Productos de la fermentación. Los seres humanos utilizan determinados microorganismos para metabolizar los azúcares en ausencia de oxígeno y producir queso, vino y pan.

Los hidratos de carbono desempeñan diversas funciones esenciales en los procesos metabólicos de los seres vivos. Se utilizan como fuentes de energía y como elementos estructurales en las células. El Capítulo 8 se centra en el papel de los hidratos de carbono en la producción de energía. Debido a que el monosacárido glucosa es una fuente de energía destacada en casi todas las células, se hace un mayor énfasis en su síntesis, degradación y almacenamiento. También se considera la utilización de otros azúcares.

Las células se encuentran en un estado de actividad incesante. Para mantener su «vida» cada célula depende de reacciones bioquímicas complejas y muy coordinadas. En el Capítulo 8 se presentan varias rutas de reacción fundamentales en el metabolismo de los hidratos de carbono de los animales. Durante la **glucólisis**, una ruta antigua que se encuentra en casi todos los organismos, se captura una cantidad pequeña de energía al convertirse una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato. El glucógeno, una forma de almacenamiento de glucosa en los vertebrados, se sintetiza por **glucogénesis** cuando la concentración de glucosa es alta, y se degrada por **glucogenólisis** cuando el aporte de glucosa es pequeño. La glucosa puede también sintetizarse a partir de precursores distintos de los hidratos de carbono por medio de reacciones denominadas **gluconeogénesis**. La **ruta de las pentosas fosfato** permite a las células convertir la glucosa-6-fosfato, un derivado de la glucosa, en ribosa-5-fosfato (el azúcar que se utiliza para sintetizar los nucleótidos y los ácidos nucleicos) y otras clases de monosacáridos. También se produce en esta ruta NADPH, un agente reductor celular importante. En los Capítulos 9 y 13 se consideran otras rutas relacionadas. En el Capítulo 13 se describe la *fotosíntesis*, un proceso en el que se captura la energía de la luz para impulsar la síntesis de hidratos de carbono. En el Capítulo 9 se considera el ciclo del glioxilato. En el *ciclo del glioxilato* algunos organismos (principalmente los vegetales) fabrican hidratos de carbono a partir de ácidos grasos.

La síntesis y utilización de la glucosa, el combustible principal de la mayoría de los organismos, son el centro de cualquier exposición sobre el metabolismo de los hidratos de carbono. En los vertebrados, la glucosa se transporta en la sangre por todo el cuerpo. Cuando las reservas de energía celular son bajas, la glucosa se degrada en la ruta glucolítica. Las moléculas de glucosa que no se requieren para producir energía de forma inmediata se almacenan en forma de glucógeno en el hígado y el músculo. Dependiendo de los requerimientos metabólicos de la célula, la glucosa también puede utilizarse para sintetizar, por ejemplo, otros monosacáridos, ácidos grasos y determinados aminoácidos. Por esta razón, la glucólisis es un ejemplo de **ruta anfibólica**. (Las rutas anfibólicas operan como procesos anabólicos y catabólicos.) En la Figura 8.1 se resumen las principales rutas del metabolismo de los hidratos de carbono en los animales.

FIGURA 8-1

Principales rutas del metabolismo de los hidratos de carbono.

En los animales, el exceso de glucosa se convierte por glucogénesis en su forma de almacenamiento, el glucógeno. Cuando se necesita glucosa como fuente de energía o como molécula precursora en los procesos de biosíntesis, se degrada glucógeno por glucogenólisis. En algunas células la glucosa se convierte en ribosa-5-fosfato (un componente de los nucleótidos) y NADPH (un potente reductor) por la ruta de las pentosas fosfato. La glucosa se oxida por glucólisis, una ruta que genera energía, que la convierte en piruvato. En ausencia de oxígeno, el piruvato se convierte en lactato. Cuando se encuentra presente el oxígeno, el piruvato se degrada más para formar acetil-CoA. Pueden extraerse de la acetil-CoA por el ciclo del ácido cítrico y el sistema de transporte electrónico cantidades significativas de energía en forma de ATP. Obsérvese que el metabolismo de los hidratos de carbono está ligado de forma compleja con el metabolismo de otros nutrientes. Por ejemplo, la acetil-CoA también se genera por la degradación de los ácidos grasos y determinados aminoácidos. Cuando la acetil-CoA se encuentra en exceso, una ruta diferente la convierte en ácidos grasos.

8.1. GLUCÓLISIS

La glucólisis, un conjunto de reacciones que tienen lugar en todas las células, se cree que es de las rutas bioquímicas más antiguas. Tanto las enzimas como el número y mecanismos de los pasos de la ruta son muy semejantes en procariotas y eucariotas. Además, la glucólisis es un proceso anaerobio, que tuvo que surgir en la atmósfera con poco oxígeno de la Tierra pre-eucariota.

En la glucólisis, que también se denomina *ruta de Embdem-Meyerhof-Parnas*, cada molécula de glucosa se divide y convierte en dos unidades de tres carbonos (piruvato). Durante este proceso se oxidan varios átomos de carbono. La pequeña cantidad de energía que se captura durante las reacciones glucolíticas (alrededor del 5 % de la total disponible) se almacena temporalmente en dos moléculas de ATP y dos de NADH. El destino ulterior del piruvato depende del organismo que se considere y de sus circunstancias metabólicas. En los **organismos anaerobios** (aquellos que no utilizan oxígeno para generar energía), el piruvato puede convertirse en productos de desecho. Entre los ejemplos se encuentran el etanol, el ácido láctico, el ácido acético y moléculas semejantes. Utilizando oxígeno como aceptor electrónico terminal, los organismos aerobios, como los animales y los vegetales, oxidan totalmente el piruvato para formar CO_2 y H_2O en un mecanismo complejo por pasos, conocido como **respiración aerobia**.

La glucólisis, que consta de 10 reacciones, tiene lugar en dos fases:

1. La glucosa se fosforila dos veces y se fracciona para formar dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato (G-3-P). Las dos moléculas de ATP que se consumen durante esta fase son una inversión, debido a que esta fase crea los sustratos reales de la oxidación de una forma que se atrapan dentro de la célula.
2. El gliceraldehído-3-fosfato se convierte en piruvato. Se producen cuatro moléculas de ATP y dos de NADH. Debido a que se han consumido dos ATP en la fase 1, la producción neta de ATP por molécula de glucosa es 2.

La ruta glucolítica puede resumirse en la siguiente ecuación:

$$\text{D-Glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ P_i + 2\ \text{NAD}^+ \rightarrow 2\ \text{piruvato} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH} + 2\ H^+ + 2\ H_2O$$

Reacciones de la ruta glucolítica

En la Figura 8.2 se resume la glucólisis. Las 10 reacciones de la ruta glucolítica son las siguientes:

1. Síntesis de glucosa-6-fosfato. Inmediatamente tras entrar en una célula, la glucosa y otras moléculas de azúcar se fosforilan. La fosforilación impide el transporte de la glucosa fuera de la célula y aumenta la reactividad del oxígeno en el éster fosfato resultante. Varias enzimas, denominadas hexoquinasas, catalizan la fosforilación de las hexosas en todas las células del organismo. El ATP, un cosustrato de la reacción, está formando complejo con el Mg^{2+}. (Los complejos ATP-Mg^{2+} son comunes en las reacciones catalizadas por quinasas). En las condiciones intracelulares la reacción es irreversible; es decir, la enzima no tiene capacidad para retener o acomodar el producto de la reacción en su lugar activo, con independencia de la concentración de G-6-P.

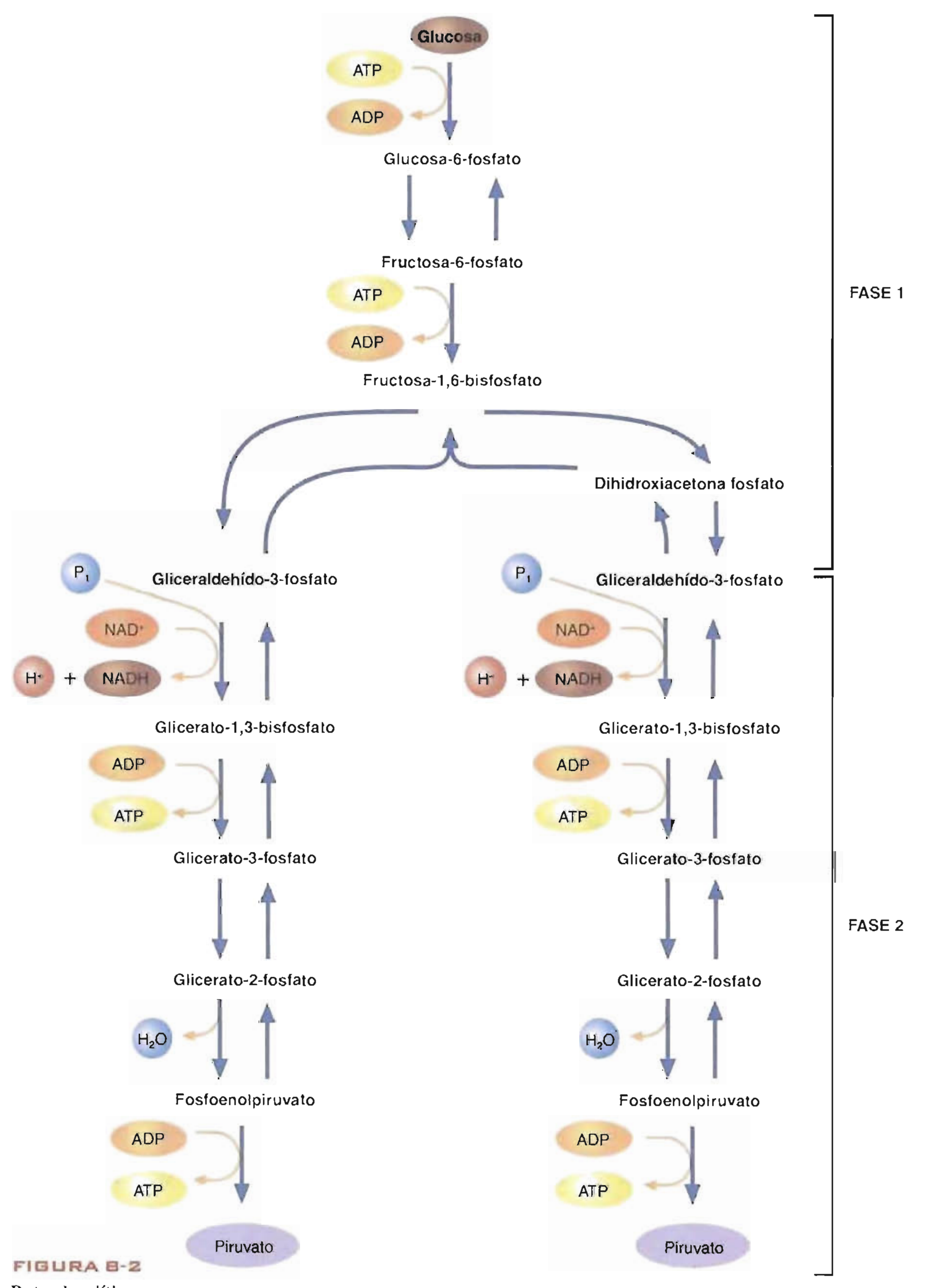


FIGURA 8-2
Ruta glucolítica.
En la glucólisis cada molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de piruvato. Además, se producen dos moléculas de ATP y dos de NADH. Las reacciones con flechas dobles son reacciones reversible y las que tienen una única flecha son reacciones irreversibles que sirven como puntos de control de la ruta.

El hígado de los animales contiene cuatro hexoquinasas. Tres de estas enzimas, que se encuentran en concentraciones variables en otros tejidos del organismo, poseen afinidades elevadas por la glucosa con relación a su concentración en sangre (es decir, quedan semisaturadas a concentraciones inferiores a 0.1 mM, aunque las concentraciones de glucosa en sangre sean aproximadamente 4-5 mM). Además, estas enzimas se inhiben de la fosforilación de las moléculas de glucosa por la glucosa-6-fosfato, el producto de la reacción. Cuando las concentraciones de glucosa en sangre son bajas, estas propiedades permiten a las células, como las del cerebro y el músculo, obtener suficiente glucosa. Cuando las concentraciones de glucosa en sangre son elevadas, las células no fosforilan más moléculas de glucosa que las que se requieren para sus necesidades inmediatas. La cuarta enzima, denominada hexoquinasa D (o glucoquinasa), cataliza la misma reacción pero posee propiedades cinéticas significativamente diferentes que permiten al hígado desviar la glucosa para su almacenamiento como glucógeno. Esta capacidad proporciona los recursos que se utilizan para mantener las concentraciones de glucosa en sangre, una función esencial del hígado. La glucoquinasa requiere concentraciones de glucosa mucho mayores para su actividad óptima (alrededor de 10 mM), y no se inhibe por la glucosa-6-fosfato. Por consiguiente, tras una comida con hidratos de carbono, el hígado no comienza a retirar cantidades grandes de glucosa de la sangre para la síntesis de glucógeno hasta que los otros tejidos hayan satisfecho sus requerimientos de esta molécula. Entre las comidas, cuando cae la glucosa sanguínea, otra enzima única de las células hepáticas (y del riñón en condiciones de inanición), denominada glucosa-6-fosfatasa (Sección 8.2), facilita la liberación a la sangre del azúcar movilizado a partir de los depósitos de glucógeno.

2. Conversión de la glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato. Durante la reacción 2 de la glucólisis, la aldosa glucosa-6-fosfato se convierte en la cetosa fructosa-6-fosfato por la fosfoglucosa isomerasa (PGI) en una reacción fácilmente reversible:

O
||
$^{-}$O—P—O—CH$_2$
|
O$^-$
OH OH OH OH

Fosfoglucosa isomerasa

O
||
$^{-}$O—P—O—CH$_2$ O CH$_2$—OH
|
O$^-$
OH OH OH

Glucosa-6-fosfato

Fructosa-6-fosfato

Recuerde que la reacción de isomerización de la glucosa y la fructosa comporta un intermediario enediol (Fig. 7.15). Esta transformación hace disponible para la fosforilación al C-1 de la fructosa producto.

3. Fosforilación de la fructosa-6-fosfato. La fosfofructoquinasa-1 (PFK-1) cataliza de forma irreversible la fosforilación de la fructosa-6-fosfato para formar fructosa-1,6-bisfosfato:

O
||
$^{-}$O—P—O—CH$_2$ O CH$_2$—OH
|
O$^-$
OH OH OH

+ ATP

PFK-1
Mg^{2+}

O O
|| ||
$^{-}$O—P—O—CH$_2$ O CH$_2$—O—P—O$^-$
| |
O$^-$ O$^-$
OH OH OH

+ ADP

Fructosa-6-fosfato

Fructosa-1,6-bisfosfato

La inversión de una segunda molécula de ATP tiene varios fines. En primer lugar, debido a que el ATP se utiliza como agente fosforilante, la reacción tiene lugar con un gran descenso de energía libre. Tras sintetizarse la fructosa-1,6-bisfosfato, la

célula queda comprometida para la glucólisis. Debido a que la fructosa-1,6-bisfosfato se fracciona en dos triosas, otro fin de la fosforilación es evitar que cualquier producto posterior difunda fuera de la célula.



La PFK-1 es una enzima reguladora principal de la glucólisis. Su actividad se inhibe alostéricamente por concentraciones elevadas de ATP y citrato, que son indicadores de que la carga energética de la célula es elevada y de que el ciclo del ácido cítrico, un componente fundamental en la capacidad generadora de energía de la célula, se ha hecho más lenta. La concentración de AMP aumenta cuando la carga energética de la célula es baja y es un mejor factor de predicción de la deficiencia energética que la concentración de ADP. El AMP es un activador alostérico de la PFK-1. La fructosa-2,6-bisfosfato es un activador alostérico de la actividad PFK-1 en el hígado y se sintetiza por la fosfofructoquinasa-2 (PFK-2) como respuesta a señales hormonales relacionadas con la concentración de glucosa en sangre. Cuando la concentración sérica de glucosa es elevada, el aumento de la fructosa-2,6-bisfosfato estimulado por las hormonas aumenta coordinadamente la actividad de la PFK-1 (activa la glucólisis) y disminuye la actividad de la enzima que cataliza la reacción inversa, la fructosa-1,6-bisfosfatasa (inhibe la gluconeogénesis, Sección 8.2). El AMP es un inhibidor alostérico de la fructosa-1,6-bisfosfatasa. La PFK-2 es una enzima bifuncional que se comporta como una fosfatasa cuando está fosforilada como respuesta a la hormona glucagón (concentración baja de azúcar en sangre) y actúa como una quinasa cuando está desfosforilada en respuesta a la hormona insulina (concentración elevada de azúcar en sangre).

ATP
ADP
PFK-2
Fructosa-6-fosfato
Fructosa-2,6-bisfosfato
Fructosa-2,6
bisfosfatasa
P_i
H_2O

4. Escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato. La fase 1 de la glucólisis finaliza con la escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato en dos moléculas de tres carbonos: gliceraldehído-3-fosfato (G-3-P) y dihidroxiacetona fosfato (DHAP). Esta reacción es una **escisión aldólica**, de ahí el nombre de la enzima: aldolasa. Las escisiones aldólicas son las inversas de las condensaciones aldólicas que se han descrito en la pág. 144. En las escisiones aldólicas los productos son un aldehído y una cetona.

Aldolasa

Fructosa-1,6-bisfosfato **Dihidroxiacetona fosfato** **Gliceraldehído-3-fosfato**

Aunque la escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato es frecuentemente desfavorable ($\Delta G^{0'} = +23.8$ kJ/mol), la reacción tiene lugar debido a que se eliminan rápidamente los productos.

5. Interconversión del gliceraldehído-3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato. De los dos productos de la reacción de la aldolasa, sólo el G-3-P se utiliza como sustrato de la reacción siguiente de la glucólisis. Para evitar la pérdida de la

glucólisis de la otra unidad de tres carbonos, la triosa fosfato isomerasa cataliza la interconversión de la DHAP en G-3-P:

Triosa fosfato isomerasa

Gliceraldehído-3-fosfato

Dihidroxiacetona fosfato

Tras esta reacción, la molécula original de glucosa se ha convertido en dos moléculas de G-3-P.

6. Oxidación del gliceraldehído-3-fosfato. Durante la reacción 6 de la glucólisis, el G-3-P se oxida y se fosforila. El producto, el glicerato-1,3-bisfosfato, contiene un enlace de energía elevada que puede utilizarse en la reacción siguiente para generar ATP:

Gliceraldehído-3-fosfato + NAD^+ + P_i (Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) ⇌ Glicerato-1,3-bisfosfato + NADH + H^+

Este complejo proceso está catalizado por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, un tetrámero formado por cuatro subunidades idénticas. Cada subunidad contiene un lugar de unión para el G-3-P y otro para el NAD^+.

Al formar la enzima un enlace covalente tioéster con el sustrato (Fig. 8.3), se transfiere al NAD^+ un ion hidruro ($H:^-$) en el lugar activo. El NADH deja entonces el lugar activo y se sustituye por el NAD^+. El aducto acil enzima es atacado por el fosfato inorgánico y el producto abandona el lugar activo.

7. Transferencia del grupo fosforilo. En esta reacción se sintetiza ATP al catalizar la fosfoglicerato quinasa la transferencia de un grupo fosforilo de energía elevada del glicerato-1,3-bisfosfato al ADP:

Glicerato-1,3-bisfosfato + ADP (Fosfoglicerato quinasa, Mg^{2+}) ⇌ Glicerato-3-fosfato + ATP

La reacción 7 es un ejemplo de fosforilación a nivel del sustrato. Debido a que la síntesis de ATP es endergónica, requiere una fuente de energía. En las **fosforilaciones a nivel del sustrato** se produce el ATP debido a la transferencia de un grupo fosforilo desde un sustrato con un potencial elevado de transferencia de grupo fosforilo. Debido a que se forman dos moléculas de glicerato-1,3-bisfosfato por cada

Enzima
NAD+
Gliceraldehído-3-fosfato
Glicerato-1,3-bisfosfato
1.
2.
Enzima
NAD+
3.
Enzima
NADH
Enzima
NADH
H^+
+
NADH
4.
NAD^+
Enzima
NAD+
5.
Glicerato-1,3-bisfosfasto

FIGURA 8-3

Reacciones de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

En el primer paso, el sustrato, gliceraldehído-3-fosfato, entra en el lugar activo. Al catalizar la enzima la reacción del sustrato con un grupo sulfhidrilo dentro del lugar activo (Paso 2), el sustrato se oxida (Paso 3). El NADH unido se reoxida por la transferencia de un ion hidruro a un NAD^+ citoplásmico (Paso 4). El desplazamiento de la enzima por el fosfato inorgánico (Paso 5) libera el producto, glicerato-1,3-bisfosfato, volviendo así la enzima a su forma original.

molécula de glucosa, esta reacción produce dos moléculas de ATP y se recupera la inversión de energía del enlace fosfato. Cualquier síntesis posterior de ATP puede considerarse un rendimiento de esta inversión.

8. Interconversión del 3-fosfoglicerato y 2-fosfoglicerato. El glicerato-3-fosfato tiene un potencial bajo de transferencia de grupo fosforilo. Como tal, es un mal candidato para una síntesis posterior de ATP. Las células convierten el glicerato-3-fosfato con su éster fosfato de baja energía en fosfoenolpiruvato (PEP), que posee un potencial de transferencia de grupo fosforilo excepcionalmente elevado. (Las energías libres estándar de la hidrólisis del glicerato-3-fosfato y del PEP son −12.6 kJ/mol y −58.6 kJ/mol, respectivamente). En el primer paso de esta conversión (reacción 8), la fosfoglicerato mutasa cataliza la conversión de un compuesto fosforilado en C-3 en un compuesto fosforilado en C-2 a través de un ciclo de adición/eliminación en dos pasos.

Fosfoglicerato mutasa

Fosfoglicerato mutasa

9. Deshidratación del 2-fosfoglicerato. La enolasa cataliza la deshidratación del glicerato-2-fosfato para formar PEP:

Enolasa

H_2O

Glicerato-2-fosfato **Fosfoenolpiruvato (PEP)**

El PEP posee un potencial de transferencia de grupo fosforilo mayor que el glicerato-2-fosfato debido a que contiene un grupo enol-fosfato en lugar de un éster fosfato simple. La razón de esta diferencia queda clara en la siguiente reacción. Los aldehídos y cetonas tienen dos formas isoméricas. La forma *enol* contiene un doble enlace carbono-carbono y un grupo hidroxilo. Los enoles se encuentran en equilibrio con la forma *ceto* más estable que contiene el carbonilo. La interconversión de las formas ceto y enol, que también se llaman **tautómeros**, se denomina **tautomerización**:

Forma enol **Forma ceto**

Esta tautomerización está restringida por la presencia del grupo fosfato, como lo es la estabilización de resonancia del ion fosfato libre. Como consecuencia, en la reacción 10 está muy favorecida la transferencia del fosforilo al ADP.

10. Síntesis de piruvato. En la reacción final de la glucólisis, la piruvato quinasa cataliza la transferencia de un grupo fosforilo desde el PEP al ADP. Se forman dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa.

PEP + ADP ⇌ (Mg^{2+}) ATP + Piruvato (forma enol) → (H^+) Piruvato (forma ceto)

Debido a que la energía libre de hidrólisis es excepcionalmente grande, el PEP se convierte en piruvato de forma irreversible. La pérdida de energía libre, que hace a la reacción irreversible, se asocia con la conversión espontánea (tautomerización) de la forma enol del piruvato en la forma ceto, más estable.

Destinos del piruvato

En términos de energía, el resultado de la glucólisis es la producción de dos ATP y dos NADH por molécula de glucosa. El piruvato, el otro producto de la glucólisis, es aún una molécula con abundante energía, que puede producir una cantidad sustancial de ATP. Sin embargo, antes de que esto pueda suceder se forma una molécula transicional intermedia mediante descarboxilación. Esta molécula es la acetil-CoA, que es el sustrato de entrada del **ciclo del ácido cítrico**, una ruta anfibólica que oxida totalmente dos carbonos a CO_2 y NADH. En presencia de oxígeno, este ciclo opera al ceder los electrones del NADH (y el $FADH_2$, otro transportador electrónico) producido en el ciclo del ácido cítrico al oxígeno a través del **sistema de transporte electrónico** para producir agua. El sistema de transporte electrónico consiste en una serie de reacciones ligadas de oxidación-reducción que transfiere los electrones desde los donadores, como el NADH, hasta los aceptores, como el O_2. Acoplado a este proceso está la generación de un gradiente de protones que impulsa la síntesis de ATP. En condiciones anaerobias está impedida una posterior oxidación del piruvato. Diversas células y organismos lo compensan convirtiendo esta molécula en un compuesto orgánico más reducido y regenerando el NAD^+ que se requiere para que continúe la glucólisis (Fig. 8.4). Este proceso de regeneración del NAD^+ se denomina **fermentación**. Las células musculares y determinadas especies bacterianas (p. ej., *Lactobacillus*) producen NAD^+ transformando el piruvato en lactato:

Piruvato + NADH + H^+ ⇌ (Lactato deshidrogenasa) Lactato + NAD^+

En las células musculares que se contraen rápidamente la demanda de energía es elevada. Tras reducirse el suministro de O_2, la *fermentación del ácido láctico* proporciona NAD^+ suficiente para permitir que continúe la glucólisis (con su bajo nivel de producción de ATP) durante un período de tiempo corto (Fig. 8.5).

PREGUNTA 8.1

La mayoría de las moléculas de etanol se destoxifican en el hígado por dos reacciones. En la primera, el etanol se oxida para formar acetaldehído. Esta reacción, que cataliza la alcohol deshidrogenasa, produce grandes cantidades de NADH:

$$CH_3-CH_2-OH + NAD^+ \xrightarrow{ADH} CH_3C(=O)-H + NADH + H^+$$

Inmediatamente tras su producción, el acetaldehído se convierte en acetato por la aldehído deshidrogenasa, que cataliza una reacción que también produce NADH:

$$CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H + NAD^+ + H_2O \xrightarrow[\text{deshidrogenasa}]{\text{Aldehído}} CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- + NADH + 2\,H^+$$

Un efecto común de la intoxicación por alcohol es la acumulación en sangre de lactato. ¿Puede explicar por qué se produce este efecto?

Los microorganismos que utilizan la fermentación del ácido láctico para generar energía pueden separarse en dos grupos. Los *fermentadores homolácticos* sólo producen lactato. Por ejemplo, varias especies de bacterias del ácido láctico cortan la leche. Los *fermentadores heterolácticos* o *mixtos* producen varios ácidos orgánicos. Por ejemplo, la fermentación ácida mixta se produce en el rumen del ganado. Los organismos simbióticos, algunos de los cuales digieren la celulosa, sintetizan ácidos orgánicos (p. ej., ácidos láctico, acético, propiónico y butírico). Los ácidos orgánicos se absorben del rumen y se utilizan como nutrientes. Se producen también gases como metano y dióxido de carbono.

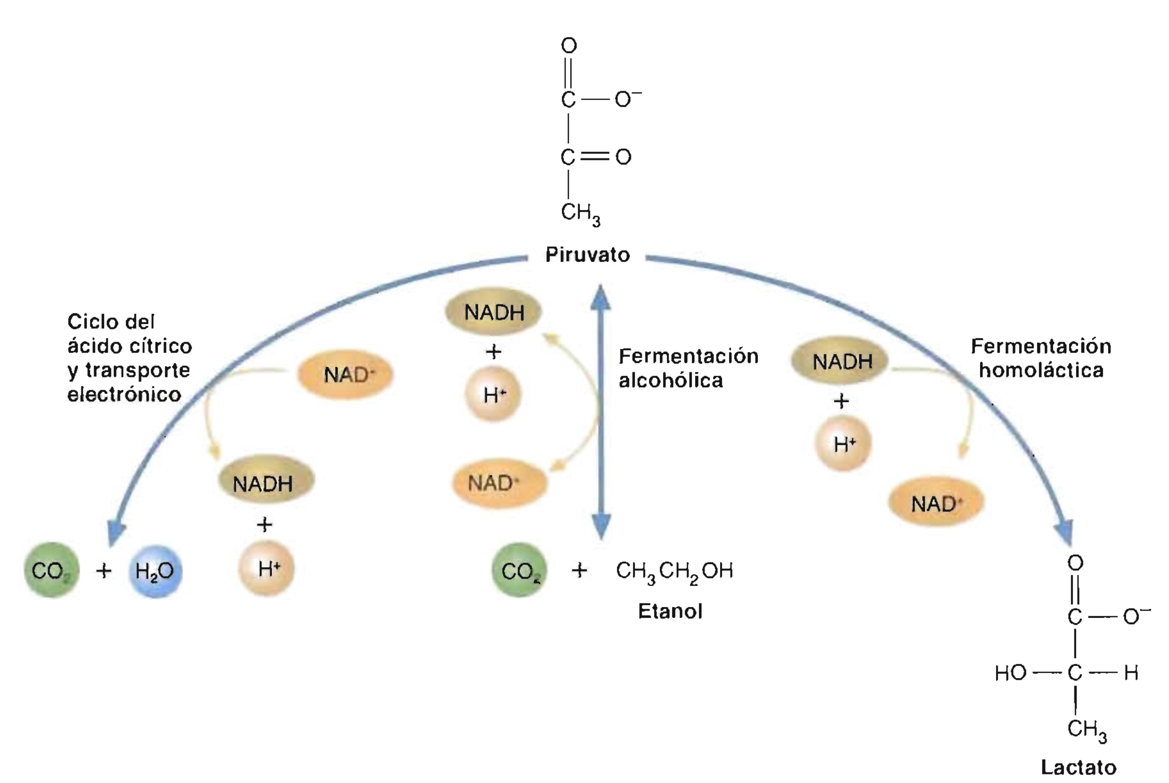
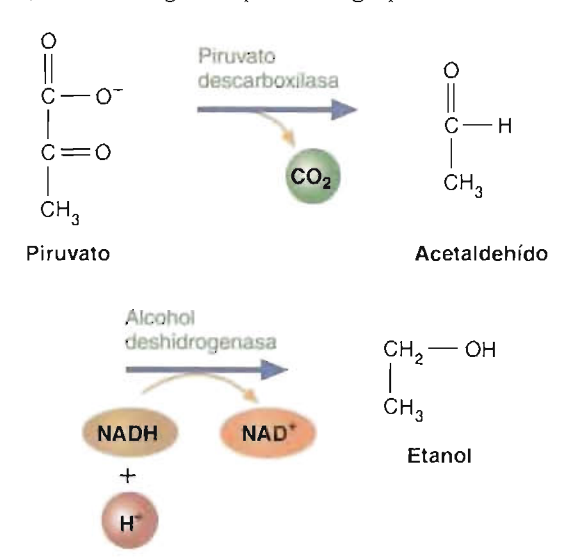


FIGURA 8-4

Destinos del piruvato.

Cuando se dispone de oxígeno (*izquierda*), los organismos aerobios oxidan totalmente el piruvato a CO_2 y H_2O. En ausencia de oxígeno, el piruvato puede convertirse en varias clases de moléculas reducidas. En algunas células (p. ej., levaduras), se producen etanol y CO_2 (*centro*). En otras (p. ej., células musculares), tiene lugar la fermentación homoláctica en la cual el lactato es el único producto orgánico (*derecha*). Algunos microorganismos utilizan reacciones de fermentación heteroláctica (no se muestran) que producen además de lactato otros ácidos o alcoholes. En todos los procesos de fermentación el fin principal es regenerar el NAD^+, de forma que pueda continuar la glucólisis.

La *fermentación alcohólica* tiene lugar en las levaduras y varias especies bacterianas. En las levaduras, el piruvato se descarboxila para formar acetaldehído, que posteriormente se reduce por el NADH para formar etanol. (En una reacción de **descarboxilación**, un ácido orgánico pierde un grupo carboxilo en forma de CO_2.)



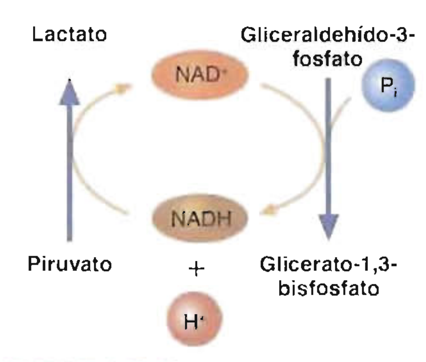


FIGURA 8-5
Reciclado del NADH durante la glucólisis anaerobia.
El NADH producido durante la conversión del gliceraldehído-3-fosfato en glicerato-1,3-bisfosfato se oxida cuando el piruvato se convierte en lactato. Este proceso permite a la célula continuar produciendo ATP durante un período de tiempo corto hasta disponer de nuevo de O_2.

La fermentación alcohólica por determinadas levaduras se utiliza comercialmente para producir vino, cerveza y pan (Recuadro de Interés Especial 8.1). Determinadas especies bacterianas producen alcoholes diferentes al metanol. Por ejemplo, *Clostridium acetobutylicum*, un microorganismo relacionado con el agente causal del botulismo y el tétanos, produce butanol. Hasta hace poco, este microorganismo se utilizaba comercialmente para sintetizar butanol, un alcohol que se emplea para producir detergentes y fibras sintéticas. En la actualidad, un proceso de síntesis que emplea petróleo ha sustituido a la fermentación microbiana.

CONCEPTOS CLAVE 8.1

Durante la glucólisis, la glucosa se convierte en dos moléculas de piruvato. Una pequeña cantidad de energía se captura en dos moléculas de ATP y dos de NADH. En los organismos anaerobios, el piruvato se convierte en productos de desecho en un proceso denominado fermentación. En presencia de oxígeno las células de los organismos aerobios convierten el piruvato en CO_2 y H_2O.

Energética de la glucólisis

Durante la glucólisis, el descenso de energía libre de la glucosa está acoplado a la síntesis neta de dos ATP. Sin embargo, la comparación de la energía libre estándar de las reacciones individuales (Fig. 8.6) no señala un patrón discernible que explique la eficacia de esta ruta. Un método más útil para evaluar las variaciones de energía libre tiene en cuenta las condiciones (p. ej., pH y concentraciones de metabolitos) en las que operan realmente las células. Como se muestra en la Figura 8.6, las variaciones de energía libre medidas en los eritrocitos indican que sólo tres reacciones (1, 3 y 10, véanse las págs. 236-243) poseen valores de ΔG significativamente negativos. Estas reacciones, catalizadas, respectivamente, por la hexoquinasa, la PFK-1 y la piruvato quinasa, son para todos los fines prácticos irreversibles; es decir, cada una se produce hasta completarse en el sentido en que están escritas. Los valores de las reacciones restantes (2, 4-9) son tan cercanos a cero que operan cerca del equilibrio. Consiguientemente, estas últimas reacciones son fácilmente reversibles; las variaciones pequeñas de las concentraciones de los sustratos o los productos pueden alterar la dirección de cada reacción. No sorprende que en la gluconeogénesis (Sección 8.2), la ruta por la que puede generarse glucosa a partir de piruvato y otros sustratos, participen todas las enzimas glucolíticas excepto las que catalizan las reacciones 1, 3 y 10. La gluconeogénesis utiliza enzimas diferentes para evitar los pasos irreversibles de la glucólisis.

Regulación de la glucólisis

La regulación de la glucólisis es compleja debido al papel crucial de la glucosa en la generación de energía y en la síntesis de numerosos metabolitos. El ritmo al que opera la ruta glucolítica está controlado principalmente por la regulación alostérica

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 8.1. La fermentación: Una herencia antigua

La producción de bebidas alcohólicas tiene una historia larga y colorista. Los seres humanos probablemente comenzaron a elaborar bebidas fermentadas hace al menos 10 000 años. Sin embargo, las pruebas arqueológicas tienen alrededor de 5500 años. Las vasijas antiguas teñidas de vino demuestran que la elaboración de vino era un negocio floreciente en Sumeria (actualmente el oeste de Irán) en el 3500 a. de C. En ese tiempo, el cultivo de la uva vinícola (*Vitis vinifera*) que se originó en Asia central, se había extendido a través del Oriente Medio, especialmente a Mesopotamia (Iraq moderno) y Egipto (Fig. 8A). Los vinos también se elaboraban a partir de dátiles dulces y de la savia de los árboles de palma.

Estos pueblos antiguos conocían también la forma de producir cerveza por fermentación de la cebada, un cereal con almidón. (Una tablilla sumeria de aproximadamente 1750 años a. de C. que contiene instrucciones para fermentar la cerveza, es probablemente una de las recetas conocidas más antigua.) La elaboración de la cerveza probablemente era una ocupación lucrativa, ya que los soldados sumerios recibían una parte de su paga en cerveza. La cerveza también era popular en el antiguo Egipto. Se han encontrado numerosas referencias en los muros de las tumbas antiguas. La cerveza que se producía en la antigua China, Japón y África central se elaboraba con mijo.

Además de sus propiedades intoxicadoras, tanto el vino como la cerveza eran valiosas en el mundo antiguo debido a sus propiedades medicinales. El vino era especialmente apreciado por los médicos antiguos. Por ejemplo, Hipócrates (460-370 a. de C.), el médico griego que dio a la profesión médica sus ideales éticos, recetaba el vino como diurético, para los vendajes de la heridas y (en cantidades moderadas) como bebida nutritiva.

Aunque los seres humanos han elaborado bebidas alcohólicas durante miles de años, la fermentación sólo se ha comprendido hace relativamente poco tiempo. Al hacerse sus negocios más competitivos en el siglo XIX, los productores comerciales de vino y cerveza de Europa dieron una financiación sustancial a las investigaciones científicas de la fermentación. Por ejemplo, Louis Pasteur estaba trabajando para la industria vinícola francesa cuando descubrió que la fermentación del vino la produce una levadura y que el deterioro del vino (es decir, la formación de vinagre) se producía por la contaminación microbiana. Se atribuye a Pasteur la salvación de la industria vinícola francesa tras su descubrimiento de que el calentamiento breve del vino a 55 °C destruye los microorganismos indeseables sin afectar al sabor. Este proceso se denomina actualmente pasteurización.

Elaboración del vino

Las uvas son muy adecuadas para el proceso fermentativo debido a que contienen azúcar suficiente para alcanzar un contenido alcohólico elevado (alrededor del 10 %). Además, el pH del vino es de alrededor de 3, lo suficientemente ácido para impedir el crecimiento de la mayoría de los demás microorganismos.



FIGURA 8A
Pintura mural egipcia que ilustra la producción de vino.



de tres enzimas: hexoquinasa, PFK-1 y piruvato quinasa. Las reacciones catalizadas por estas enzimas son irreversibles y pueden activarse o desactivarse por efectores alostéricos. En general, los efectores alostéricos son moléculas cuyas concentraciones celulares son indicadores sensibles del estado metabólico de una célula. Algunos efectores alostéricos son moléculas producto. Por ejemplo, la hexoquinasa se inhibe por el exceso de glucosa-6-fosfato. Varias moléculas relacionadas con la energía actúan también como efectores alostéricos. Por ejemplo, una concentración elevada de AMP (un indicador de una producción baja de energía) activa a la PFK-1 y a la piruvato quinasa. Por el contrario, una concentración elevada de ATP (un indicador

El sabor distintivo y el buquet (aroma) de cada vino vienen determinados por muchos factores. Los más destacados son la cepa de la uva que se utiliza y sus condiciones de crecimiento (p. ej., el contenido mineral y el drenaje del suelo, y la cantidad e intensidad de la luz solar).

La elaboración del vino comienza cuando se trituran los racimos de uva y se transforman en zumo. El triturado contiene la piel de las uvas, las pepitas y un líquido que se denomina *mosto*. El mosto contiene azúcares (principalmente glucosa y fructosa) en cantidades variables (del 12 % al 27 %) y cantidades pequeñas de varios ácidos orgánicos (p. ej., ácidos tartárico, málico y cítrico). Los vinos blancos se elaboran utilizando uvas con pieles sin pigmentar o mostos de los que se han eliminado las pieles pigmentadas de las uvas antes de la fermentación. Los vinos tintos se producen cuando las pieles pigmentadas de las uvas permanecen en el mosto durante la fermentación. Durante ésta, las levaduras no sólo convierten el azúcar en alcohol, sino que también producen moléculas volátiles y aromáticas que no están presentes en el mosto original. Entre éstas se encuentran hasta 10 000 tipos diferentes de moléculas, como ésteres complejos, alcoholes de cadena larga, varios ácidos, glicerol y otras sustancias que contribuyen al carácter singular del vino. Algunas de estas moléculas, denominadas *congéneres*, pueden contribuir a la resaca. Entre los ejemplos están el acetato de etilo y el alcohol amílico. La tiramina, que deriva del aminoácido tirosina y que se encuentra en el vino tinto, es especialmente bien conocida por este efecto.

$$CH_3\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2CH_3 \qquad CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2-OH$$

Acetato de etilo **Alcohol amílico**

$$HO-C_6H_4-CH_2CH_2NH_2$$

Tiramina

En la producción comercial de vino se controlan de forma cuidadosa la temperatura y la concentración de oxígeno. A temperaturas más bajas, las levaduras producen más moléculas que potencian el sabor y el aroma. Además, durante una fermentación en frío es menos probable que crezcan otros microorganismos. Una concentración de oxígeno elevada al comienzo de una fermentación produce una división celular rápida, de forma que hay más levaduras para fermentar el azúcar. Posteriormente, al reducirse la concentración de oxígeno, las levaduras excretan cantidades cada vez mayores de alcohol. Tras la fermentación, se deja que sedimenten las levaduras y otras partículas antes de decantar con cuidado el vino. El vino nuevo se coloca en barriles de madera, donde envejece lentamente. La oxidación controlada da lugar a los sabores y aromas complejos típicos de los buenos vinos.

Elaboración de la cerveza

Las cervezas se elaboran a partir de cereales con almidón. Aunque se han utilizado el trigo y la avena y otros cereales para producir cerveza, la cebada es el cereal preferido. Además de su contenido elevado de almidón y sus grandes cantidades de enzimas adecuadas, las semillas de cebada (que se llaman *grano*) poseen varias capas estructurales que las protegen durante el almacenamiento y las primeras fases de la elaboración de la cerveza.

El primer paso en la elaboración de la cerveza es un proceso que se denomina *malteado*, en el que el almidón se degrada para dar glucosa y maltosa. Durante el malteado, el grano, macerado en agua, se deja germinar. Al producirse la germinación, la giberelina, una hormona vegetal, estimula la producción de enzimas. Grandes cantidades de enzimas como la amilasa y otras (p. ej., proteasas, ribonucleasas y fosfatasas) forman el mosto de la cerveza (extracto de malta que posteriormente se convertirá en cerveza) un alimento adecuado para la levadura. Tras terminar la germinación por el secado del grano, la *malta* resultante se cura a 100 °C. (Durante el curado, se produce, en una cantidad significativa, el color y sabor de la cerveza.) El curado reduce el contenido de humedad de la malta hasta un 2-5 % y detiene la actividad enzimática. (La amilasa es resistente a las temperaturas elevadas; su temperatura óptima es 70 °C.)

La elaboración de la cerveza continúa con el *amasado*, en el que la malta finamente triturada se mezcla con agua y enzimas suficientes para degradar aún más cualquier resto de almidón o proteína. Tras el amasado, el producto disuelto (que ahora se llama mosto de cerveza) se separa por filtración de un residuo insoluble (denominado grano gastado). (El grano gastado se suele vender como forraje para el ganado.) Posteriormente, el mosto de cerveza se hierve con lúpulo, los conos secos de la enredadera *Humulus lupulus*, que proporciona a la cerveza su sabor amargo. Tras enfriar y eliminar el lúpulo, comienza la fermentación al inocular el mosto de cerveza con cepas puras de la levadura. (Suele utilizarse una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, que suele denominarse levadura de cerveza.) La fermentación se controla cuidadosamente variando la temperatura y otros parámetros. La fermentación continúa hasta que se alcanza la concentración deseada de alcohol. (En Estados Unidos, la cantidad de alcohol de la cerveza varia entre el 3.6 % y el 4.9 % en peso.) Tras filtrar la cerveza recién hecha para eliminar las levaduras, se almacena durante varios meses para que sedimente. La producción de cerveza termina con la filtración y la pasteurización.

de que están satisfechas las necesidades metabólicas de la célula) inhibe ambas enzimas. El citrato y la acetil-CoA, que se acumulan cuando hay abundancia de ATP, inhiben la PFK-1 y la piruvato quinasa, respectivamente. La fructosa-2,6-bisfosfato, producida por la modificación covalente de la PFK-2 inducida hormonalmente, es un indicador de concentraciones elevadas de glucosa disponible y activa alostéricamente la PFK-1. La fructosa-1,6-bisfosfato que se acumula activa la piruvato quinasa, proporcionando un mecanismo de control hacia delante (es decir, la fructosa-1,6-bisfosfato es un activador alostérico). La regulación de la glucólisis se resume en el Cuadro 8.1.

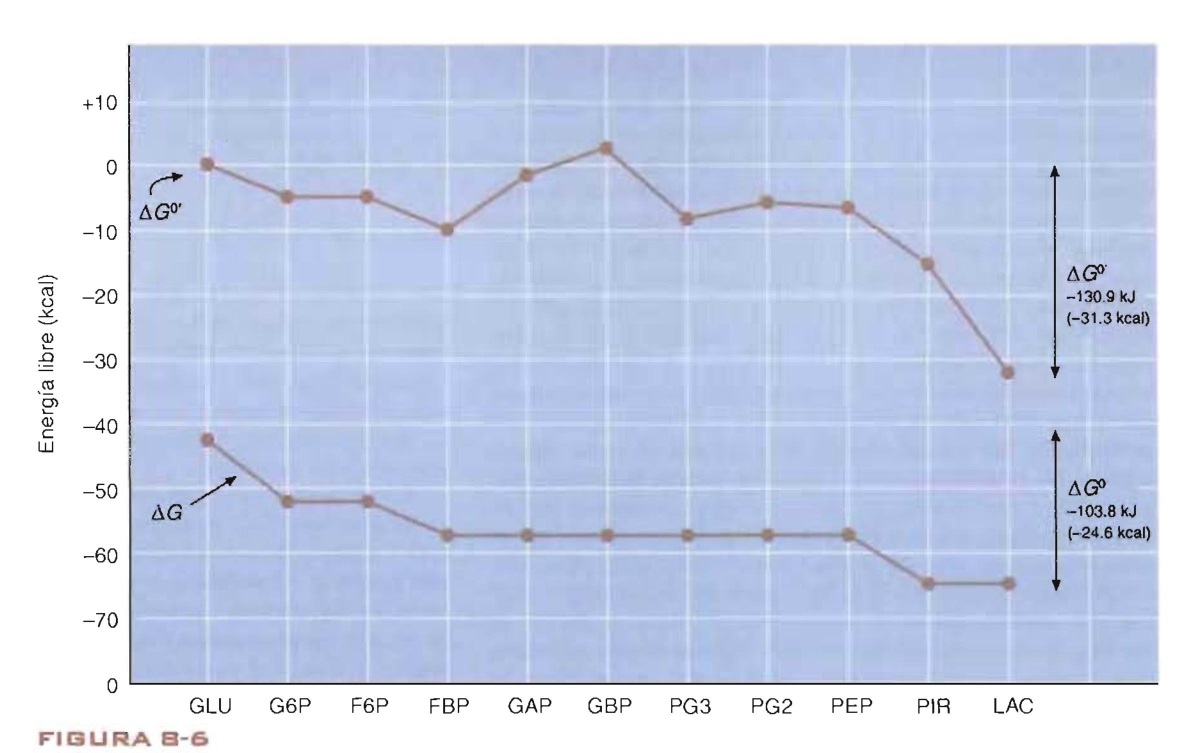


FIGURA 8-6

Variaciones de energía libre durante la glucólisis en los eritrocitos.

Obsérvese que las variaciones de energía libre estándar ($\Delta G^{0'}$) para las reacciones de la glucólisis no muestran un patrón consistente. Por el contrario, los valores de energía libre reales (ΔG), basados en las concentraciones de los metabolitos medidas en los eritrocitos, ilustran con claridad por qué las reacciones 1, 3 y 10 (la conversión de glucosa en glucosa-6-fosfato, de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato y de fosfoenolpiruvato en piruvato, respectivamente) son irreversibles. La fácil reversibilidad de las reacciones restantes viene indicada por sus valores de ΔG cercanos a cero. (GLU = glucosa, G6P = glucosa-6-fosfato, F6P = fructosa-6-fosfato, FBP = fructosa-1,6-bisfosfato, GAP = gliceraldehído fosfato, PG3 = glicerato-3-fosfato, PG2 = glicerato-2-fosfato, PEP = fosfoenolpiruvato, PIR = piruvato, LAC = lactato)

CUADRO 8-1

Regulación alostérica de la glucólisis

Enzima	Activador	Inhibidor
Hexoquinasa		Glucosa-6-fosfato, ATP
PFK-1	Fructosa-2,6-bisfosfato, AMP	Citrato, ATP
Piruvato quinasa	Fructosa-1,6-bisfosfato, AMP	Acetil-CoA, ATP

El glucagón, presente cuando la glucosa sérica es baja, activa la función fosfatasa de la PFK-2, reduciendo la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato de la célula. La insulina, presente cuando la glucosa sérica es elevada, activa la función quinasa de la PFK-2, aumentando la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato de la célula.

PREGUNTA 8.2

La insulina es una hormona que segrega el páncreas cuando aumenta el azúcar sanguíneo. Su función que se observa con mayor facilidad es la reducción de la concentración sanguínea de azúcar al valor normal. La unión de la insulina a la mayoría de las células del organismo estimula el transporte de glucosa a través de la membrana plasmática. La capacidad de una persona para responder a una comida con hidratos de carbono reduciendo rápidamente la concentración sanguínea de glucosa se denomina *tolerancia a la glucosa*. Los animales con deficiencia de cromo tienen una menor tolerancia a la glucosa; es decir, no pueden retirar la glucosa de la sangre con suficiente rapidez. Se cree que el metal facilita la unión de la insulina a las células. ¿Piensa que el cromo actúa como un activador alostérico o como un cofactor?

PREGUNTA 8.3

Louis Pasteur, el gran químico y microbiólogo francés del siglo XIX, fue el primer científico que hizo la observación siguiente. Las células que pueden oxidar la glucosa totalmente a CO_2 y H_2O utilizan la glucosa más rápidamente en ausencia de O_2 que en su presencia. El O_2 parece inhibir el consumo de glucosa. Explique en términos generales el significado de este hallazgo, que se denomina en la actualidad **efecto Pasteur**.

8.2. GLUCONEOGÉNESIS

La gluconeogénesis, la formación de moléculas nuevas de glucosa a partir de precursores que no son hidratos de carbono, se produce principalmente en el hígado. Estos precursores son el lactato, el piruvato, el glicerol y determinados α-cetoácidos (moléculas que derivan de los aminoácidos). En determinadas situaciones (esto es, acidosis metabólica e inanición) el riñón puede formar glucosa. Entre las comidas se mantienen las concentraciones sanguíneas adecuadas de glucosa por la hidrólisis del glucógeno hepático. Cuando se agota el glucógeno hepático (p. ej., por un ayuno prolongado o ejercicio vigoroso), la ruta gluconeogénica proporciona al organismo la glucosa adecuada. El cerebro y los eritrocitos dependen exclusivamente de la glucosa como fuente de energía. En circunstancias excepcionales, las células cerebrales también pueden utilizar determinados derivados de los ácidos grasos para generar energía. Los músculos esqueléticos que realizan ejercicio utilizan la glucosa almacenada en forma de glucógeno en la célula muscular en combinación con los ácidos grasos almacenados en forma de micelas en la célula muscular.

Reacciones de la gluconeogénesis

La secuencia de reacciones de la gluconeogénesis es, en gran medida, la inversa de la glucólisis. Sin embargo, recuerde que tres reacciones glucolíticas (las reacciones catalizadas por la hexoquinasa, la PFK-1 y la piruvato quinasa) son irreversibles. En la gluconeogénesis, para evitar estos obstáculos se utilizan reacciones alternativas catalizadas por enzimas diferentes. Posteriormente se resumen las reacciones singulares de la gluconeogénesis. En la Figura 8.7 se presentan la ruta gluconeogénica completa y sus relaciones con la glucólisis. Las reacciones de circunvalación de la gluconeogénesis son las siguientes:

1. **Síntesis de PEP**. La síntesis de PEP a partir de piruvato requiere dos enzimas: piruvato carboxilasa y PEP carboxiquinasa. La piruvato carboxilasa, que se encuentra dentro de las mitocondrias, convierte el piruvato en oxalacetato (OAA):

La coenzima *biotina*, que actúa como transportador de CO_2, está unida covalentemente a la enzima a través del grupo amino de la cadena lateral de un residuo de lisina. El OAA se descarboxila y fosforila por la PEP carboxiquinasa en una reacción impulsada por la hidrólisis de la guanosina trifosfato (GTP):

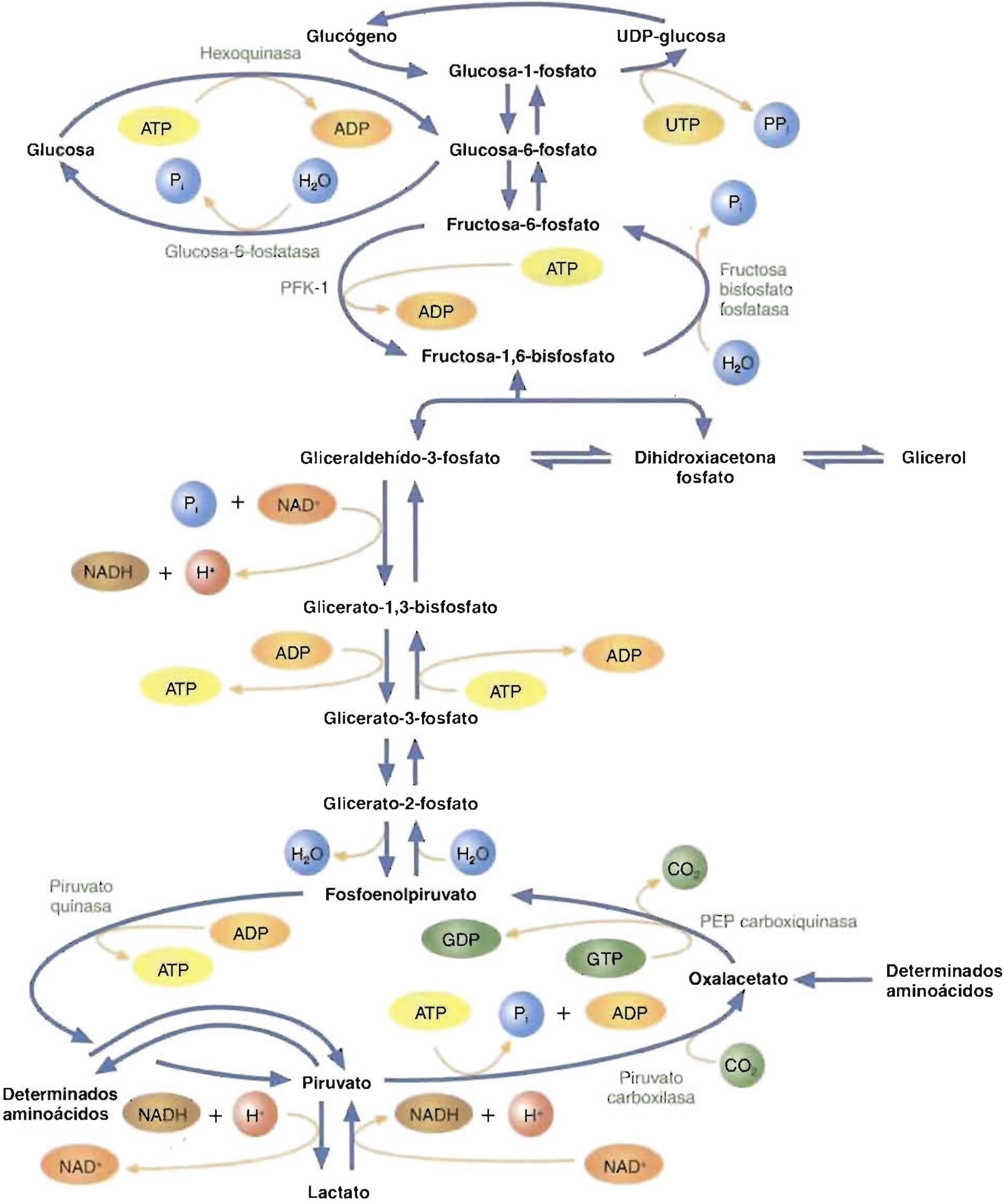


FIGURA 8-7

Metabolismo de los hidratos de carbono: gluconeogénesis y glucólisis.

En la gluconeogénesis, que tiene lugar cuando la concentración de azúcar en sangre es baja y está agotado el glucógeno hepático, se invierten 7 de las 10 reacciones de la glucólisis. Tres reacciones glucolíticas irreversibles se evitan mediante otras reacciones. Los principales sustratos de la gluconeogénesis son determinados aminoácidos (que proceden del músculo), el lactato (que se forma en el músculo y los eritrocitos) y el glicerol (que se produce en la degradación de los triacilgliceroles). Al contrario que las reacciones de la glucólisis, que sólo tienen lugar en el citoplasma, varias reacciones de la gluconeogénesis tienen lugar dentro de las mitocondrias (las reacciones catalizadas por la piruvato carboxilasa y, en algunas especies, la PEP carboxiquinasa) y el retículo endoplásmico (la reacción catalizada por la glucosa-6-fosfatasa).

OAA PEP

La PEP carboxiquinasa se encuentra dentro de las mitocondrias de algunas especies y en el citoplasma de otras. En el ser humano, esta actividad enzimática se encuentra en ambos compartimientos. Debido a que la membrana mitocondrial interna es impermeable al OAA, las células que carecen de PEP carboxiquinasa mitocondrial transfieren el OAA al citoplasma utilizando, por ejemplo, la **lanzadera del malato**. En este proceso, el OAA se convierte en malato por la malato deshidrogenasa mitocondrial. Tras el transporte del malato a través de la membrana mitocondrial, la reacción inversa está catalizada por la malato deshidrogenasa citoplásmica.

OAA Malato

2. **Conversión de la fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato**. La reacción irreversible de la glucólisis catalizada por la PFK-1 se evita por la fructosa-1,6-bisfosfatasa:

Fructosa-1,6-bisfosfato Fructosa-6-fosfato

Esta reacción exergónica ($\Delta G^{0'} = -16.7$ kJ/mol) es también irreversible en las condiciones celulares. El ATP no se regenera. La fructosa-1,6-bisfosfatasa es una enzima alostérica. Su actividad se estimula por el citrato y se inhibe por el AMP y la fructosa-2,6-bisfosfato.

3. **Formación de glucosa a partir de glucosa-6-fosfato**. La glucosa-6-fosfatasa, que sólo se encuentra en el hígado y el riñón, cataliza la hidrólisis irreversible de la glucosa-6-fosfato para formar glucosa y P_i. A continuación, la glucosa se libera a la sangre.

Como se ha señalado, cada una de las reacciones anteriores está emparejada con una reacción opuesta irreversible en la glucólisis. Cada conjunto de estas reacciones emparejadas se denomina *ciclo de sustrato*. Debido a que están reguladas de forma

coordinada (un activador de la enzima que cataliza la dirección directa sirve como inhibidor de la enzima que cataliza la reacción inversa), se desperdicia muy poca energía a pesar de que ambas enzimas pueden estar funcionando al mismo nivel al mismo tiempo. El *control de flujos* (regulación del flujo de sustrato y eliminación del producto) es más eficaz si la acumulación transitoria de un producto se encauza hacia atrás a través del ciclo. La velocidad catalítica de la enzima en sentido directo permanecerá elevada si la concentración del sustrato se hace máxima. La ganancia de eficacia catalítica compensa con creces la pequeña pérdida de energía del reciclado del producto.

La gluconeogénesis es un proceso que consume energía. En lugar de generar ATP (como la glucólisis), la gluconeogénesis requiere la hidrólisis de seis enlaces fosfato de energía elevada.

PREGUNTA 8.4



La *hipertermia maligna* es una enfermedad hereditaria poco frecuente que se desencadena por determinados anestésicos durante las operaciones quirúrgicas. Un aumento considerable (y peligroso) de la temperatura corporal (hasta 44°C) se acompaña de rigidez muscular y acidosis. La contracción muscular excesiva se inicia por una gran liberación de calcio del retículo sarcoplásmico. (El retículo sarcoplásmico es un orgánulo de almacenamiento de calcio de las células musculares.) La acidosis es consecuencia de un exceso de producción de ácido láctico. Es esencial para salvar la vida del paciente un tratamiento rápido para reducir la temperatura corporal y contrarrestar la acidosis. Un factor probable que contribuye a esta enfermedad es el ciclo derrochador entre la glucólisis y la gluconeogénesis. Explique por qué es ésta una explicación razonable.

PREGUNTA 8.5

Más abajo se presenta el resumen de las reacciones de la gluconeogénesis. Tras observar la ruta gluconeogénica, explique cada componente de la ecuación. (*Pista*: La hidrólisis de cada nucleótido libera un protón.)

$$2\ C_3H_4O_3 + 4\ ATP + 2\ GTP + 2\ NADH + 2\ H^+ + 6\ H_2O \longrightarrow$$

Ácido pirúvico

$$1\ C_6H_{12}O_6 + 4\ ADP + 2\ GDP + 2\ NAD^+ + 6\ HPO_4^{2-} + 6\ H^+$$

Glucosa

PREGUNTA 8.6

Los pacientes con la *enfermedad de von Gierke* (una enfermedad de almacenamiento de glucógeno) carecen de actividad glucosa-6-fosfatasa. Dos síntomas notables de este enfermedad son la hipoglucemia en ayunas y la acidosis láctica. ¿Puede explicar por qué se producen estos síntomas?

Sustratos gluconeogénicos

Como se ha mencionado previamente, varios metabolitos son precursores gluconeogénicos. Se describen brevemente tres de los sustratos más importantes.

El lactato lo liberan los eritrocitos y otras células que carecen de mitocondrias o poseen concentraciones bajas de oxígeno. En el **ciclo de Cori**, el lactato se libera por las células musculares durante el ejercicio (Fig. 8.8). Tras transferir el lactato al hígado, se reconvierte en piruvato por la lactato deshidrogenasa y luego en glucosa por gluconeogénesis.

El glicerol, un producto del metabolismo de las grasas en el tejido adiposo, se transporta al hígado en la sangre, y luego se convierte en glicerol-3-fosfato por la glicerol quinasa. (La glicerol quinasa sólo se encuentra en el hígado.) La oxidación

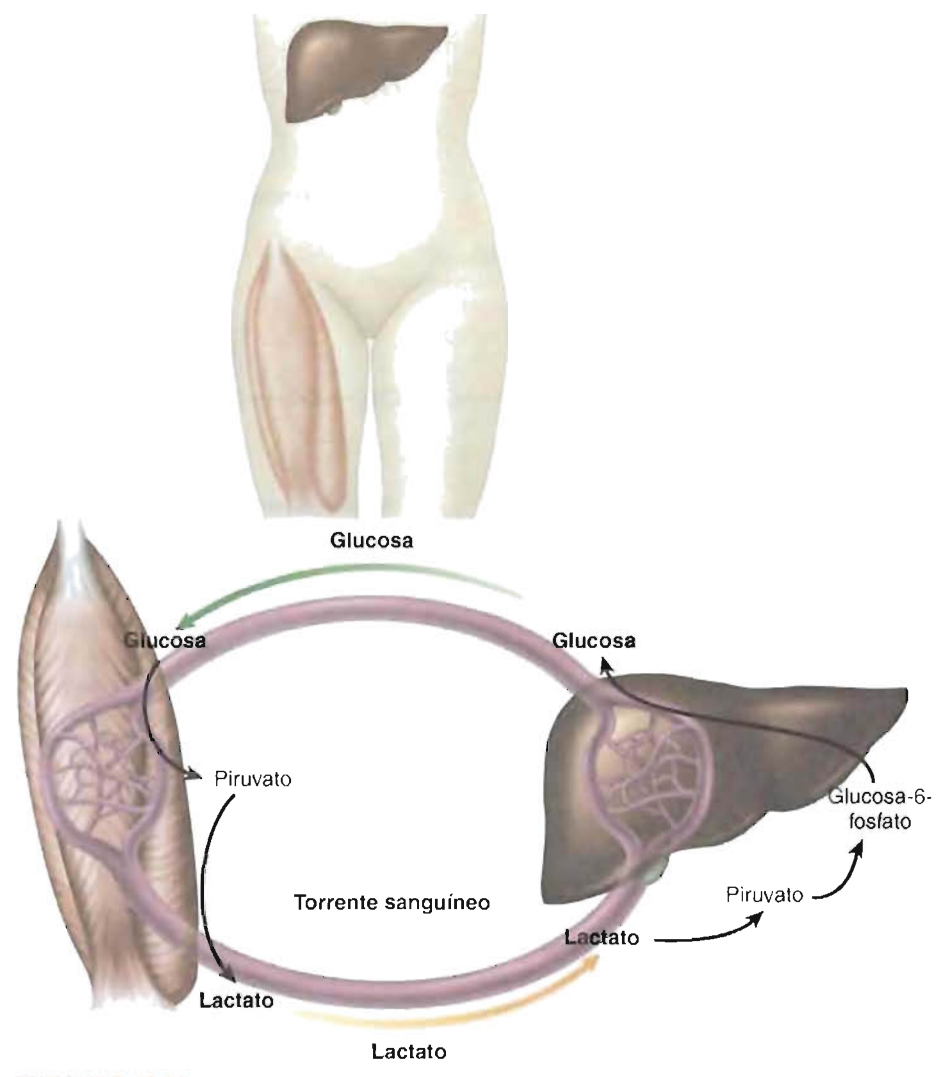


FIGURA 8-8

Ciclo de Cori.

Durante el ejercicio extenuante, se produce lactato en las células musculares en condiciones anaerobias. Tras pasar a través de la sangre al hígado, el lactato se convierte en glucosa mediante gluconeogénesis.

del glicerol-3-fosfato para formar DHAP se produce cuando la concentración citoplásmica de NAD^+ es relativamente elevada.

Glicerol ($HOCH_2{-}CH(OH){-}CH_2OH$) —[Glicerol quinasa; ATP → ADP]→ Glicerol-3-fosfato ($HOCH_2{-}CH(OH){-}CH_2{-}O{-}PO_3^{2-}$) —[Glicerol fosfato deshidrogenasa; NAD^+ → NADH + H^+]→ DHAP ($HOCH_2{-}C(=O){-}CH_2{-}O{-}PO_3^{2-}$)

De todos los aminoácidos que pueden convertirse en intermediarios glucolíticos (moléculas denominadas *glucogénicas*), la alanina es quizá el más importante. (El metabolismo de los aminoácidos glucogénicos se describe en el Capítulo 15.) Cuando el músculo en ejercicio produce cantidades grandes de piruvato, parte de estas moléculas se convierten en alanina por reacción de transaminación con participación del glutamato:

$$\underset{\textbf{Piruvato}}{CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-} + \underset{\textbf{L-Glutamato}}{{}^-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\underset{\underset{+NH_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-}$$

$$\rightleftharpoons \quad \text{Alanina transaminasa}$$

$$\underset{\textbf{L-Alanina}}{CH_3-\underset{\underset{+NH_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-} + \underset{\boldsymbol{\alpha}\textbf{-Cetoglutarato}}{{}^-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-}$$

Tras su transporte al hígado, la alanina se reconvierte en piruvato y luego en glucosa. El **ciclo glucosa-alanina** (Fig. 8.9) tiene varios fines. Además de su papel en el reciclado de α-cetoácidos entre el músculo y el hígado, el ciclo glucosa-alanina es un mecanismo de transporte de NH_4^+ al hígado. En los α-cetoácidos, que suelen denominarse esqueletos carbonados, un grupo carbonilo está unido directamente al grupo carboxilo. Entre los ejemplos se encuentran el piruvato y el α-cetoglutarato. El hígado convierte a continuación el NH_4^+, un ion muy tóxico, en urea (Capítulo 15).

Regulación de la gluconeogénesis

Igual que en otras rutas metabólicas, el ritmo de la gluconeogénesis está afectado principalmente por la disponibilidad de los sustratos, los efectores alostéricos y las hormonas. No es sorprendente que la gluconeogénesis se estimule por las concentraciones elevadas de lactato, glicerol y aminoácidos. Una alimentación con muchas grasas, la inanición y un ayuno prolongado proporcionan grandes cantidades de estas moléculas.

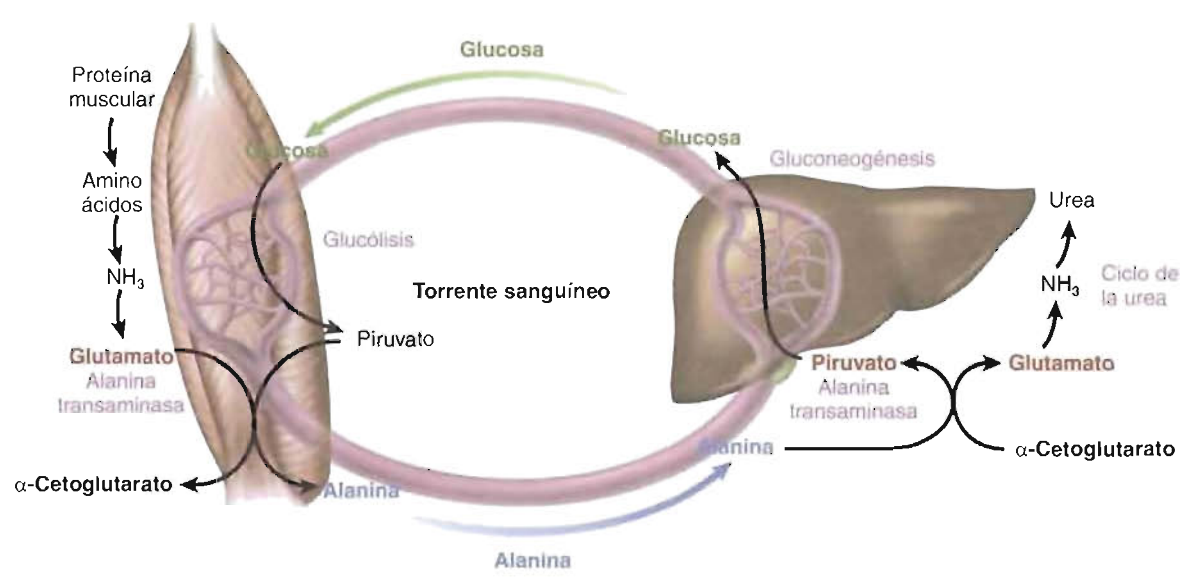


FIGURA 8-9

Ciclo glucosa-alanina.

La alanina se forma a partir de piruvato en el músculo. Tras su transporte al hígado, la alanina se reconvierte en piruvato por la alanina transaminasa. Finalmente, el piruvato se utiliza en la síntesis de glucosa. Debido a que el músculo no puede sintetizar urea a partir del nitrógeno de los aminoácidos, el ciclo glucosa-alanina se utiliza para transferir el nitrógeno amino al hígado.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 8.2. Esta es la glucosa de su cerebro

El cerebro humano está formado de un número estimado de 100 000 millones de neuronas que juntas integran todas las funciones del organismo. A pesar de su tamaño relativamente pequeño (alrededor de 1.5 kg, o el 2 % del peso corporal de un adulto promedio), el cerebro humano utiliza, en condiciones de reposo, entre el 15 y el 20 % del gasto cardíaco corporal. Este órgano profundamente complejo requiere un aporte sanguíneo tan grande debido a su tasa metabólica elevada. Una breve interrupción del flujo continuo de oxígeno, nutrientes y energía, en forma de glucosa, puede producir inconsciencia. Los procesos metabólicos del cerebro son tan complicados que las investigaciones de la función del cerebro han sido muy limitadas hasta la aparición relativamente reciente de las tecnologías radiográficas computarizadas de imagen como el PET (tomografía de emisión de positrones). Los estudios PET permiten la investigación no invasiva del funcionamiento del cerebro. Los barridos PET detectan la radiactividad emitida por compuestos dentro del cerebro. La molécula radiotrazadora que se emplea con mayor frecuencia para los estudios de barrido PET del cerebro es la 2-desoxi-2[^{18}F]fluoro-β-D-glucosa, denominada ^{18}F-desoxiglucosa. Debido a que la ^{18}F-desoxiglucosa tiene una vida corta, la persona que recibe el procedimiento está expuesta a cantidades muy pequeñas de radiación.

CH_2OH, O, OH, OH, HO, ^{18}F

2-Desoxi-2-[^{18}F] fluoro-β-D-glucosa

Tras inyectar una pequeña cantidad de ^{18}F-desoxiglucosa a una persona, se obtienen los barridos PET realizando fotografías de los rayos γ que se emiten después de que se transporten a las células las moléculas de glucosa marcadas radiactivamente. Una vez en la célula, la glucosa y su análogo ^{18}F-desoxiglucosa se convierten en ésteres fosfato por la hexoquinasa. Sin embargo, a diferencia de la glucosa, el producto fosforilado del radiotrazador, ^{18}F-desoxiglucosa-6-fosfato, no es un inhibidor de la hexoquinasa ni un sustrato de la fosfoglucosa isomerasa. Por consiguiente, la molécula del radiotrazador fosforilado «atrapada» se acumula dentro de la célula. Al desintegrarse el isótopo radiactivo emitiendo positrones, estas partículas encuentran electrones cercanos y se forman rayos γ. El «scanner» PET convierte los rayos emitidos en imágenes codificadas por colores que descubren la intensidad de la actividad metabólica de las estructuras que se observan. Los barridos PET muestran variaciones de la actividad metabólica debido a que cuando una región cerebral se hace más activa, requiere más nutrientes y energía, y de ahí que aumente su captura de glucosa y el barrido «se ilumina». Los barridos PET (Fig. 8B) se han utilizado para estudiar los cerebros de voluntarios sanos con el fin de identificar las áreas cerebrales implicadas en tareas como la lectura, la recuperación de la memoria y la solución de problemas. Se han empleado también para detectar, diagnosticar e investigar varios tipos de tumores cerebrales, las enfermedades degenerativas como el Alzheimer y el Parkinson, y las enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia.

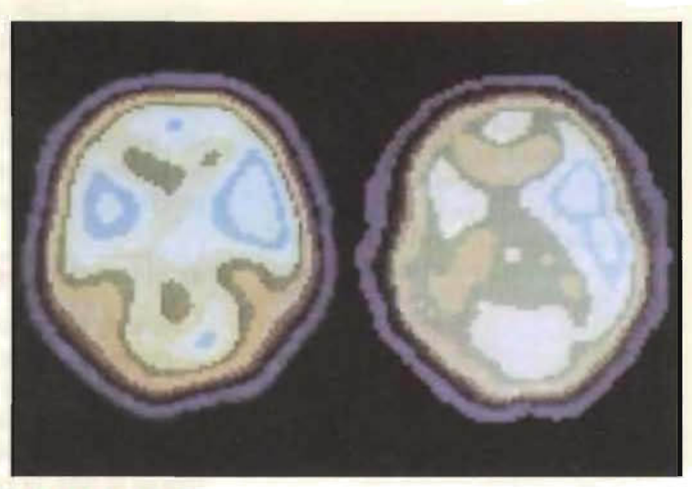


FIGURA 8B
Imágenes PET de captura de la ^{18}F-desoxiglucosa en los cerebros de un adulto normal (izquierda) y un adulto deprimido (derecha). Las regiones de menor metabolismo de la glucosa están señaladas en azul y verde, y las de una captura elevada de glucosa en rojo y amarillo.



Las cuatro enzimas clave de la gluconeogénesis (piruvato carboxilasa, PEP carboxiquinasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa y glucosa-6-fosfatasa) se afectan en diverso grado por los moduladores alostéricos. Por ejemplo, la fructosa-1,6-bisfosfatasa se activa por el ATP y se inhibe por el AMP y la fructosa-2,6-bisfosfato. La acetil-CoA activa la piruvato carboxilasa. (La concentración de acetil-CoA, un producto de la degradación de los ácidos grasos, es especialmente elevada durante la inanición.)

Igual que en otras rutas bioquímicas, las hormonas afectan la gluconeogénesis alterando las concentraciones de los efectores alostéricos y la velocidad a la que se sintetizan las enzimas clave. Como se ha mencionado previamente, el glucagón deprime la síntesis de la fructosa-2,6-bisfosfato, activando la función fosfatasa de la PFK-2. El descenso de la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato reduce la activación de la PFK-1 y libera la inhibición de la fructosa-1,6-bisfosfatasa.

Otro efecto de la unión del glucagón a las células hepáticas es la inactivación de la enzima glucolítica piruvato quinasa. (La proteína quinasa C, una enzima que se activa por el cAMP, convierte la piruvato quinasa en su conformación fosforilada inactiva.) Las hormonas influyen también sobre la gluconeogénesis alterando la síntesis de enzimas. Por ejemplo, el cortisol (una hormona esteroidea producida por la

corteza de las glándulas suprarrenales) estimula la síntesis de las enzimas gluconeogénicas. (El *cortisol* facilita la adaptación del organismo a las situaciones agresivas. Sus acciones afectan al metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos.) Finalmente, la acción de la insulina conduce a la síntesis de moléculas nuevas de glucoquinasa, PFK-1 y PFK-2. La acción del glucagón conduce a la síntesis de moléculas nuevas de PEP carboxiquinasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa y glucosa-6-fosfatasa.

Estas hormonas realizan esta función alterando el estado de fosforilación de determinadas proteínas diana de la célula hepática, que a su vez modifican la expresión de los genes. El punto clave a recordar es que es el cociente insulina/glucagón el que ejerce los principales efectos reguladores sobre el metabolismo de los hidratos de carbono. Tras una comida con hidratos de carbono, el cociente insulina/glucagón es elevado y predomina en el hígado la glucólisis sobre la gluconeogénesis. Tras un período de ayuno o tras una comida con pocos hidratos de carbono y muchas grasas, el cociente insulina/glucagón es bajo y predomina en el hígado la gluconeogénesis sobre la glucólisis. El segundo regulador importante del control recíproco de la glucólisis y la gluconeogénesis es la disponibilidad de ATP, ya que las cantidades elevadas de AMP, el producto de baja energía de la hidrólisis del ATP, incrementan el flujo a través de la glucólisis a expensas de la gluconeogénesis, y las cantidades bajas de AMP incrementan el flujo a través de la gluconeogénesis a expensas de la glucólisis. Aunque el control del ciclo PFK-1/fructosa-1,6-bisfosfatasa podría parecer suficiente para esta ruta, el control del paso de la piruvato quinasa es clave, ya que permite la retención máxima de PEP, una molécula con un potencial de transferencia de fosfato muy elevado.

CONCEPTOS CLAVE 8.2

La gluconeogénesis, la síntesis de moléculas nuevas de glucosa a partir de precursores que no son hidratos de carbono, tiene lugar principalmente en el hígado. La secuencia de reacciones es la inversa de la glucólisis, excepto las tres reacciones que evitan los pasos irreversibles de la glucólisis.

8.3. RUTA DE LAS PENTOSAS FOSFATO

La ruta de las pentosas fosfato es otra ruta metabólica de oxidación de la glucosa en la que no se genera ATP. Sus productos principales son NADPH, un agente reductor que se requiere en varios procesos anabólicos, y ribosa-5-fosfato, un componente estructural de los nucleótidos y los ácidos nucleicos. La ruta de las pentosas fosfato se produce en el citoplasma en dos fases: oxidativa y no oxidativa. En la fase oxidativa de la ruta, la conversión de la glucosa-6-fosfato en ribulosa-5-fosfato va acompañada por la producción de dos moléculas de NADPH.

En la fase no oxidativa se produce la isomerización y la condensación de varias moléculas de azúcar diferentes. Tres intermediarios de este proceso que son útiles en otras rutas son la ribosa-5-fosfato, la fructosa-6-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato.

La fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato consta de tres reacciones (Fig. 8.10a). En la primera reacción, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) cataliza la oxidación de la glucosa-6-fosfato. La 6-fosfogluconolactona y el NADPH son los productos de esta reacción. A continuación la 6-fosfogluconolactona se hidroliza para producir 6-fosfogluconato. Durante la descarboxilación oxidativa del 6-fosfogluconato, una reacción que produce ribulosa-5-fosfato, se produce una segunda molécula de NADPH.

Estas reacciones proporcionan una cantidad sustancial del NADPH que se requiere para los procesos reductores (es decir, la biosíntesis de lípidos) y los mecanismos antioxidantes. Por esta razón, esta ruta es más activa en las células en las que se sintetizan cantidades relativamente grandes de lípidos, por ejemplo, el tejido adiposo, la corteza suprarrenal, la glándula mamaria y el hígado.

El NADPH también es un antioxidante potente. (Los **antioxidantes** son sustancias que impiden la oxidación de otras moléculas. En el Capítulo 10 se describen sus acciones en los procesos vivos.) Por consiguiente, la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato también es bastante activa en las células con riesgo elevado de daño oxidativo, como los eritrocitos. La fase no oxidativa comienza con la conversión de la ribulosa-5-fosfato en ribosa 5-fosfato por la ribulosa-5-fosfato isomerasa, o en xilulosa-5-fosfato por la ribulosa-5-fosfato epimerasa. Durante las reacciones restantes de la ruta (Fig. 8.10b), la transcetolasa y la transaldolasa catalizan las interconversiones de triosas, pentosas y hexosas. La transcetolasa es una enzima que requiere TPP que transfiere unidades de dos carbonos desde una cetosa a una aldosa.

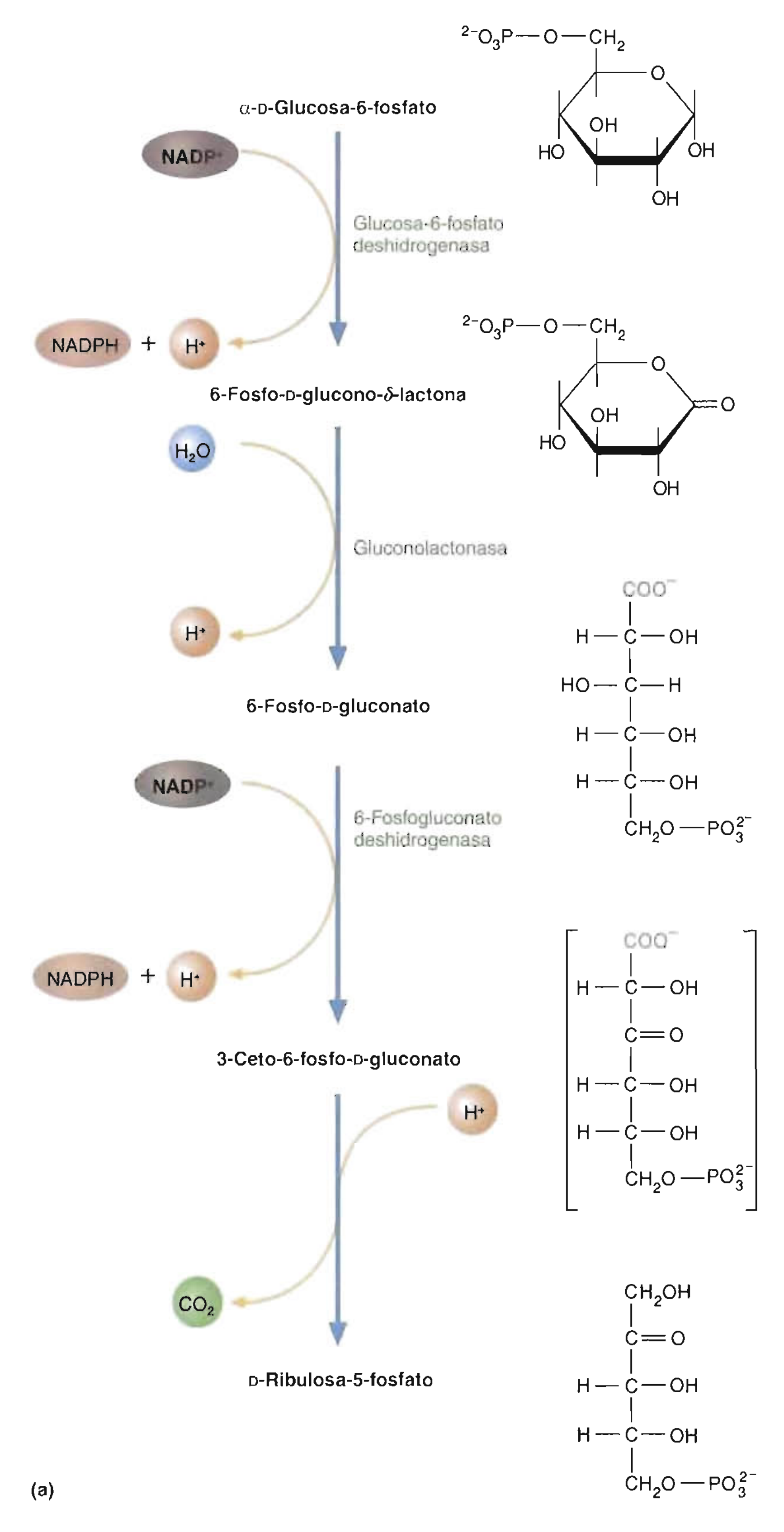
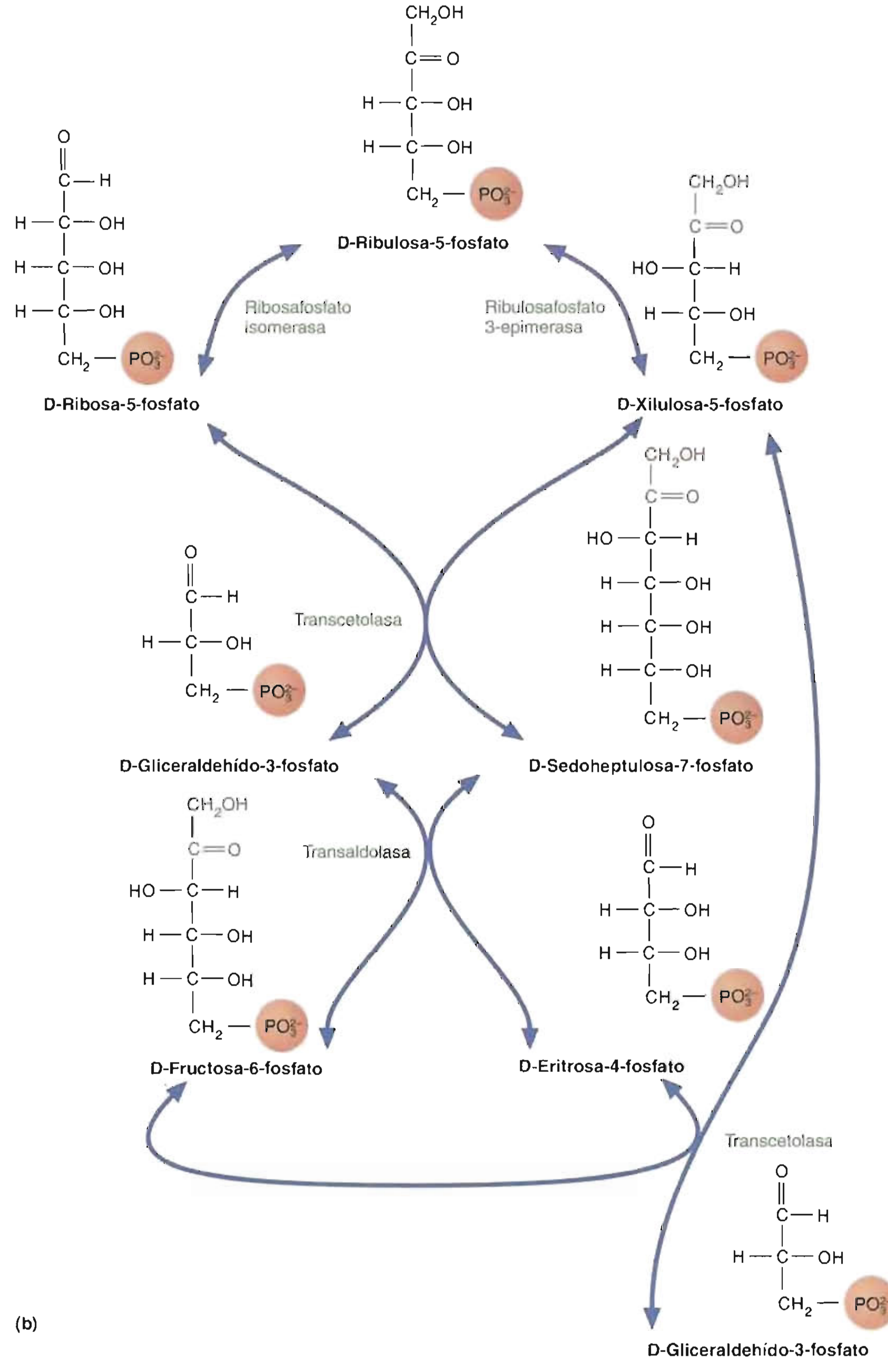


FIGURA 8-10

Ruta de las pentosas fosfato.

(a) Fase oxidativa. El NADPH es un producto importante de estas reacciones. (b) Fase no oxidativa. Cuando las células requieren más NADPH que pentosas fosfato, las enzimas de la fase no oxidativa convierten la ribosa-5-fosfato en los intermediarios glucolíticos fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato.

(La TPP, tiamina pirofosfato, es la forma coenzimática de la tiamina, conocida también como vitamina B_1.) Dos reacciones están catalizadas por la transcetolasa. En la primera reacción, la enzima transfiere una unidad de dos carbonos desde la xilulosa-5-fosfato a la ribosa-5-fosfato, produciendo gliceraldehído-3-fosfato y sedoheptulosa-7-



(b)

fosfato. En la segunda reacción catalizada por la transcetolasa, una unidad de dos carbonos de otra molécula de xilulosa-5-fosfato se transfiere a la eritrosa-4-fosfato para formar una segunda molécula de gliceraldehído-3-fosfato y fructosa-6-fosfato. (La eritrosa-4-fosfato la utilizan algunos organismos para sintetizar aminoácidos

aromáticos.) La transaldolasa transfiere unidades de tres carbonos desde una cetosa a una aldosa. En la reacción catalizada por la transaldolasa, se transfiere una unidad de tres carbonos desde la sedoheptulosa-7-fosfato al gliceraldehído-3-fosfato. Los productos que se forman son fructosa-6-fosfato y eritrosa-4-fosfato. El resultado de la fase no oxidativa de la ruta es la síntesis de ribosa-5-fosfato y los intermediarios glucolíticos gliceraldehído-3-fosfato y fructosa-6-fosfato.

Cuando no se requieren las pentosas para las reacciones de biosíntesis, los metabolitos de la porción no oxidativa de la ruta se convierten en intermediarios glucolíticos que pueden degradarse posteriormente para generar energía o convertirse en moléculas precursoras para los procesos de biosíntesis (Fig. 8.11). Por esta razón, la ruta de las pentosas fosfato también se denomina *derivación de las hexosas monofosfato*. En los vegetales, la ruta de las pentosas fosfato participa en la síntesis de glucosa durante las reacciones oscuras de la fotosíntesis (Capítulo 13).

La ruta de las pentosas fosfato está regulada de forma que satisfaga los requerimientos momentáneos de NADPH y ribosa-5-fosfato. La fase oxidativa es muy activa en las células como los eritrocitos o los hepatocitos, en las que las demandas de NADPH son elevadas. Por el contrario, la fase oxidativa se encuentra virtualmente ausente en células como las musculares, que sintetizan pocos lípidos o no lo hacen. La G-6-PD cataliza un paso regulador clave en la ruta de las pentosas fosfato. Su actividad se inhibe por el NADPH y se estimula por el GSSG (el GSSG es la forma oxidada del glutatión, un importante antioxidante celular que se considera en el Capítulo 10) y la glucosa-6-fosfato. Además, la alimentación con un elevado contenido de hidratos de carbono incrementa la síntesis de G-6-PD y fosfogluconato deshidrogenasa.

CONCEPTOS CLAVE 8.3

La ruta de las pentosas fosfato produce NADPH, ribosa-5-fosfato y varios intermediarios glucolíticos.



NADPH
NADPH
Glucosa
ATP
CO_2
Glucosa-6-fosfato
Ruta de las pentosas fosfato
Ribulosa-5-fosfato
Glucólisis
Xilulosa-5-fosfato
Fructosa-6-fosfato
ATP
Ribosa-5-fosfato
Fructosa-1,6-bisfosfato
Gliceraldehído-3-fosfato
2 NADH
2 ATP
2 ATP
Piruvato

FIGURA 8-11

Metabolismo de los hidratos de carbono: glucólisis y ciclo de las pentosas fosfato.

Si la célula requiere más moléculas de NADPH que de ribosa, puede canalizar los productos de la fase no oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato hacia la glucólisis. Como explica esta visión general de las dos rutas, el exceso de ribosa-5-fosfato puede convertirse en los intermediarios glucolíticos fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato.

8.4. METABOLISMO DE OTROS AZÚCARES IMPORTANTES

Otros azúcares diferentes de la glucosa son importantes en los vertebrados. Los más notables son la fructosa, la galactosa y la manosa. Junto con la glucosa, estas moléculas son los azúcares que se encuentran más frecuentemente en los oligosacáridos y los polisacáridos. Son también fuentes importantes de energía. En la Figura 8.12 se presentan las reacciones por medio de las cuales estos azúcares se convierten en intermediarios glucolíticos.

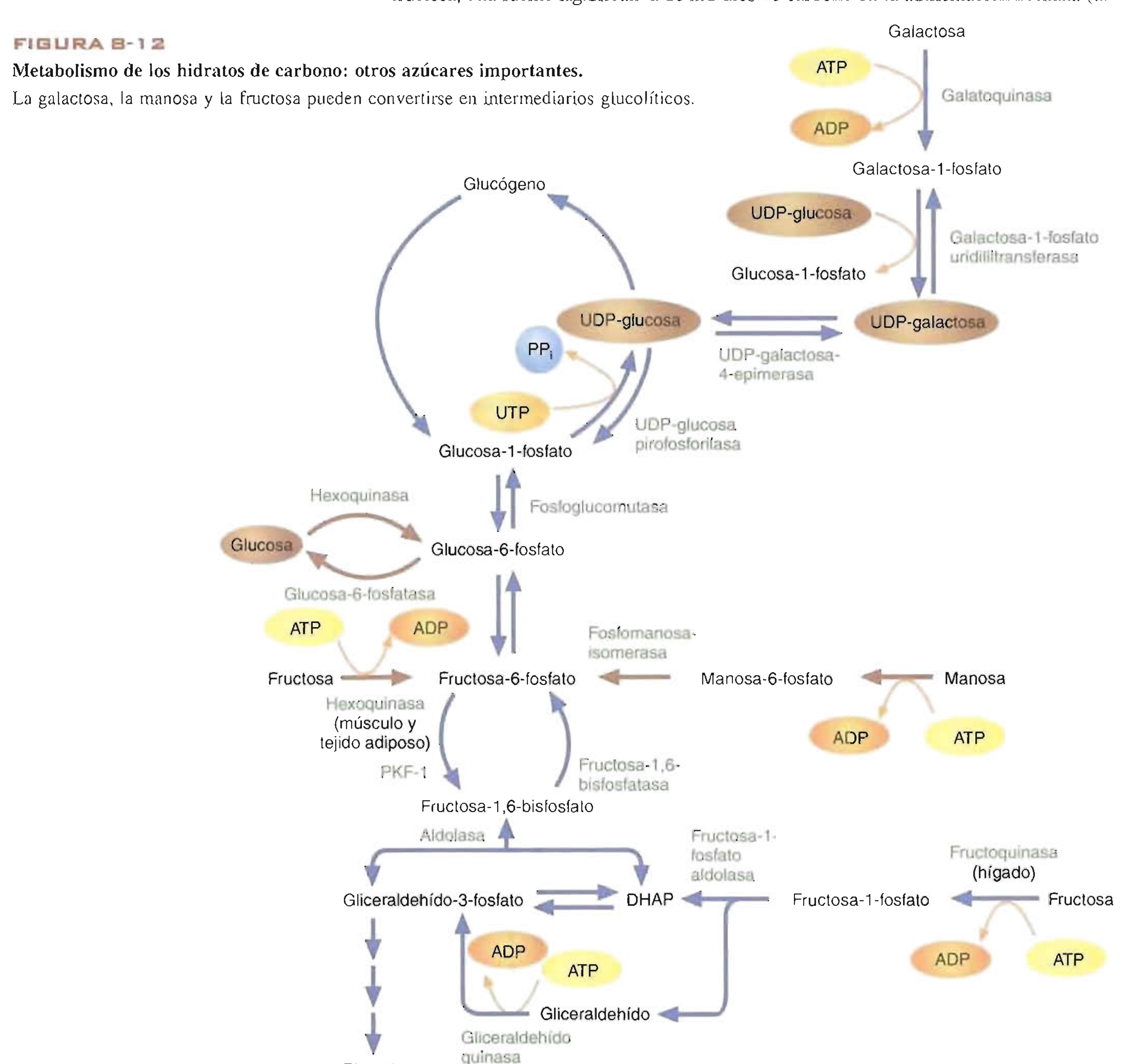
Metabolismo de la fructosa

Las fuentes alimentarias de fructosa son las frutas, la miel y el disacárido sacarosa. La fructosa, una fuente significativa de hidratos de carbono en la alimentación humana (la

FIGURA 8-12

Metabolismo de los hidratos de carbono: otros azúcares importantes.

La galactosa, la manosa y la fructosa pueden convertirse en intermediarios glucolíticos.



segunda sólo detrás de la glucosa), puede entrar en la ruta glucolítica por dos caminos. En el hígado, la fructosa se convierte en fructosa-1-fosfato por la fructoquinasa:

Fructosa → (Fructoquinasa; ATP → ADP) → Fructosa-1-fosfato

Cuando la fructosa-1-fosfato penetra en la ruta glucolítica, primero se escinde en dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y gliceraldehído por la fructosa-1-fosfato aldolasa. Luego la DHAP se convierte en gliceraldehído-3-fosfato por la triosa fosfato isomerasa. El gliceraldehído-3-fosfato se genera a partir del gliceraldehído, y el ATP por la gliceraldehído quinasa.

Fructosa-1-fosfato → (Fructosa-1-fosfato aldolasa) → DHAP + Gliceraldehído

DHAP ⇌ (Triosa fosfato isomerasa) Gliceraldehído-3-fosfato

Gliceraldehído → (Gliceraldehído quinasa; ATP → ADP) → Gliceraldehído-3-fosfato

La conversión de la fructosa-1-fosfato en intermediarios glucolíticos evita dos pasos reguladores (las reacciones catalizadas por la hexoquinasa y la PFK-1); de esta forma, la fructosa se metaboliza más rápidamente que la glucosa.

En el músculo y el tejido adiposo, la fructosa se convierte en el intermediario glucolítico fructosa-6-fosfato por la hexoquinasa. Debido a que las hexoquinasas tienen una afinidad baja por la fructosa, esta reacción tiene una importancia menor, a no ser que el consumo de fructosa sea excepcionalmente elevado.

Fructosa → (Hexoquinasa; ATP → ADP) → Fructosa-6-fosfato

Metabolismo de la galactosa

Aunque la galactosa y la glucosa tienen estructuras semejantes (es decir, son epímeros), para introducir este azúcar en la ruta glucolítica se requieren varias reacciones. La galactosa se convierte incialmente en galactosa-1-fosfato por la galactoquinasa:

Galactosa → (Galactoquinasa; ATP → ADP) → Galactosa-1-fosfato

Luego la galactosa-1-fosfato se transforma en el derivado nucleotídico UDP-galactosa. Durante el desarrollo fetal y la infancia, el primer paso en esta conversión está catalizado por la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa. (La enfermedad hereditaria galactosemia, que se describe en la pág. 212 está producida por la ausencia de esta enzima.)

Galactosa-1-fosfato → (Galactosa-1-fosfato uridiltransferasa; UDP-glucosa → Glucosa-1-fosfato) → UDP-galactosa

Comenzando en la adolescencia, la UDP-galactosa se produce en una reacción catalizada por la UDP-galactosa pirofosforilasa:

Galactosa-1-fosfato + UTP ⇌ UDP-galactosa + PP_i

Luego se forma la UDP-galactosa por la isomerización de la galactosa catalizada por la UDP-glucosa-4-epimerasa:

UDP-galactosa ⇌ (UDP-galactosa-4-epimerasa) UDP-glucosa

Dependiendo de las necesidades metabólicas de la célula, la UDP-glucosa se utiliza directamente en la síntesis de glucógeno o se convierte en glucosa-1-fosfato por la UDP-glucosa pirofosforilasa. La glucosa-1-fosfato entra en la ruta glucolítica tras su conversión en glucosa-6-fosfato por la fosfoglucomutasa.

Metabolismo de la manosa

La manosa es un componente importante de los oligosacáridos que se encuentra en las glucoproteínas. Debido a que es un componente secundario de la alimentación, la manosa es una fuente energética sin importancia. Tras la fosforilación por la hexoquinasa, la manosa entra en la ruta glucolítica como fructosa-6-fosfato.

D-Manosa → (Hexoquinasa; ATP → ADP) → Manosa-6-fosfato → (Fosfomanosa isomerasa) → Fructosa-6-fosfato

8.5. METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

La síntesis y degradación del glucógeno están reguladas cuidadosamente para que pueda disponerse de suficiente glucosa para las necesidades energéticas del organismo. La glucogénesis y la glucogenólisis están controladas principalmente por tres hormonas: insulina, glucagón y adrenalina.

Glucogénesis

La síntesis de glucógeno se produce tras una comida, cuando la concentración sanguínea de glucosa es elevada. Se sabe desde hace mucho tiempo que rápidamente tras el consumo de una comida con hidratos de carbono se produce la glucogénesis hepática. Hasta hace poco se suponía que la glucosa sanguínea era el único precursor directo de este proceso. Sin embargo, hoy día parece que en condiciones fisiológicas una parte del glucógeno se forma por un mecanismo con la secuencia siguiente: glucosa del alimento → molécula C_3 → glucógeno hepático. El lactato y la alanina se cree que son las moléculas C_3 más probables en este proceso. Como se indica en la Figura 8.7, ambas moléculas se convierten fácilmente en glucosa en el hígado. El tratamiento siguiente delinea la síntesis de glucógeno desde la glucosa-6-fosfato.

La glucogénesis comporta el siguiente conjunto de reacciones:

1. Síntesis de glucosa-1-fosfato. La glucosa-6-fosfato se convierte de forma reversible en glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa, una enzima que contiene un grupo fosforilo unido a un residuo de serina reactivo:

Glucosa-6-fosfato ⇌ (Fosfoglucomutasa) [Glucosa-1,6-bisfosfato] ⇌ (Fosfoglucomutasa) Glucosa-1-fosfato

El grupo fosforilo de la enzima se transfiere a la glucosa-6-fosfato, formando glucosa-1,6-bisfosfato. Al formarse la glucosa-1-fosfato, el grupo fosforilo unido a C-6 se transfiere al residuo de serina de la enzima.

2. Síntesis de UDP-glucosa. La formación del enlace glucosídico es un proceso endergónico. La derivatización del azúcar con un buen grupo de salida proporciona la fuerza impulsora para la mayoría de las reacciones de transferencia de azúcares. Por esta razón, la síntesis de nucleótidos-azúcar es una reacción común que precede a la transferencia de azúcar y a los procesos de polimerización. La uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa) es más reactiva que la glucosa y se mantiene de

forma más segura en el lugar activo de las enzimas que catalizan las reacciones de transferencia (denominadas glucosil transferasas). Debido a que la UDP-glucosa contiene dos enlaces fosforilo, es una molécula muy energética. La formación de la UDP-glucosa, cuyo valor de $\Delta G^{0'}$ es cercano a cero, es una reacción reversible catalizada por la UDP-glucosa pirofosforilasa:

Glucosa-1-fosfato + UTP ⇌ UDP-glucosa + PP_i

Sin embargo, la reacción se completa debido a que el pirofosfato (PP_i) se hidroliza inmediatamente y de forma irreversible por la pirofosforilasa con una pérdida grande de energía libre ($\Delta G^{0'} = -33.5$ kJ/mol):

PP_i + H_2O → 2 P_i

(Recuerde que la eliminación del producto desplaza el equilibrio de la reacción hacia la derecha. Esta estrategia celular es habitual.)

3. Síntesis de glucógeno a partir de UDP-glucosa. La formación de glucógeno a partir de UDP-glucosa requiere dos enzimas:

a. Glucógeno sintasa, que cataliza la transferencia del grupo glucosilo de la UDP-glucosa a los extremos no reductores del glucógeno (Fig. 8.13a), y
b. Amilo-α-(1,4→1,6)-glucosil transferasa (enzima ramificante) que crea los enlaces α(1,6) para las ramificaciones de la molécula (Fig. 8.13b).

La síntesis de glucógeno requiere una cadena de glucógeno. La síntesis de glucógeno se cree que se inicia por la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa a un residuo específico de tirosina en una proteína «cebadora» denominada *glucogenina*. En el citoplasma de las células hepáticas y musculares de los animales bien alimentados pueden observarse gránulos grandes de glucógeno, cada uno formado por una molécula de glucógeno muy ramificada. Las enzimas responsables de la síntesis y degradación del glucógeno recubren cada gránulo.

Glucogenólisis

La degradación del glucógeno requiere las dos reacciones siguientes:

1. Eliminación de la glucosa de los extremos no reductores del glucógeno. Utilizando fosfato inorgánico (P_i), la glucógeno fosforilasa rompe los enlaces α(1,4) de las ramificaciones externas del glucógeno para dar glucosa-1-fosfato. La glucógeno fosforilasa se detiene cuando llega a cuatro residuos de glucosa hasta el punto de ramificación (Fig. 8.14). (Una molécula de glucógeno que se ha degradado hasta estos puntos de ramificación se denomina *dextrina límite*.)

2. Hidrólisis de los enlaces glucosídicos α(1,6) en los puntos de ramificación del glucógeno. La amilo-α(1,6)-glucosidasa, que también se denomina enzima desramificante, comienza a eliminar los puntos de ramificación α(1,6) transfiriendo los tres residuos de glucosa más externos de los cuatro unidos al punto de ramificación a un extremo no reductor cercano. Luego elimina el único residuo de glucosa unido en cada punto de ramificación. El producto de esta última reacción es glucosa libre (Fig. 8.15).

En la Figura 8.16 se presenta un resumen de la glucogenólisis.

FIGURA 8-13

Síntesis de glucógeno.

(a) La enzima glucógeno sintasa rompe el enlace éster de la UDP-glucosa y forma un enlace glucosídico α(1,4) entre la glucosa y la cadena creciente de glucógeno. (b) La enzima ramificante es la responsable de la síntesis de enlaces α(1,6) en el glucógeno.

Glucógeno fosforilasa

Glucosa-1-fosfato

Glucógeno

FIGURA 8-14

Degradación del glucógeno.

La glucógeno fosforilasa cataliza la separación de los residuos de glucosa de los extremos no reductores de una cadena de glucógeno.



Regulación del metabolismo del glucógeno

El metabolismo del glucógeno está regulado de forma cuidadosa para evitar el derroche de energía. Tanto la síntesis como la degradación están controladas mediante un mecanismo complejo con participación de la insulina, el glucagón y la adrenalina. Estas hormonas inician procesos que controlan varios conjuntos de enzimas. La unión del glucagón a las células hepáticas estimula la glucogenólisis e inhibe la glucogénesis. Al caer la concentración sanguínea de glucosa horas después de una comida, el glucagón asegura la liberación de glucosa al torrente sanguíneo. Tras unirse el glucagón a su receptor, la adenilato ciclasa (una enzima de la membrana celular) se estimula y convierte el ATP en la molécula señalizadora intracelular AMP 3'-5'-cíclico, que se abrevia cAMP. Luego el cAMP inicia una cascada de reacciones (que se describe en el Capítulo 16) que amplifica la señal original. En segundos, unas pocas moléculas de glucagón han iniciado la liberación de miles de moléculas de glucosa.

Cuando está ocupado, el receptor de insulina se convierte en una enzima tirosina quinasa activa que produce una cascada de fosforilación que en última instancia

FIGURA 8-15

Degradación del glucógeno.

Los puntos de ramificación del glucógeno se eliminan por la enzima desramificante (amilo-α(1,6)-glucosidasa).

tiene el efecto opuesto al sistema glucagón/cAMP: las enzimas de la glucogenólisis se inhiben y las enzimas de la glucogénesis se activan. La insulina aumenta también el ritmo de la captación de la glucosa en varias clases de células diana, pero no en las células hepáticas o cerebrales.

El estrés emocional o la agresión física liberan adrenalina por la médula suprarrenal. La adrenalina estimula la glucogenólisis e inhibe la glucogénesis. En situaciones de urgencia, cuando se libera adrenalina en cantidades relativamente grandes, la producción masiva de glucosa proporciona la energía que se requiere para controlar la situación. Este efecto se denomina respuesta de escape o lucha. La adrenalina inicia el proceso activando la adenilato ciclasa del hígado y las células musculares. Otros dos segundos mensajeros, los iones calcio y el inositol trisfosfato (Capítulo 16) se cree que también participan en la acción de la adrenalina.

La glucógeno sintasa y la glucógeno fosforilasa poseen ambas conformaciones activas e inactivas que se interconvierten por modificación covalente. La forma activa de la glucógeno sintasa, conocida como forma I (independiente), se convierte en la forma inactiva o D (dependiente) mediante fosforilación. Por el contrario, la forma inactiva de la glucógeno fosforilasa (fosforilasa b) se convierte en la forma activa (fosforilasa a) por la fosforilación de un residuo específico de serina. La enzima fosforilante se denomina fosforilasa quinasa. La fosforilación de la glucógeno sintasa y de la fosforilasa quinasa está catalizada por una proteína quinasa, que se activa

CONCEPTOS CLAVE 8.4

Durante la glucogénesis, la glucógeno sintasa cataliza la transferencia del grupo glucosilo de la UDP-glucosa a los extremos no reductores del glucógeno, y la enzima ramificante del glucógeno cataliza la formación de los puntos de ramificación. La glcogenólisis requiere la glucógeno fosforilasa y la enzima desramificante. El metabolismo del glucógeno está regulado por la acción de tres hormonas: glucagón, insulina y adrenalina.

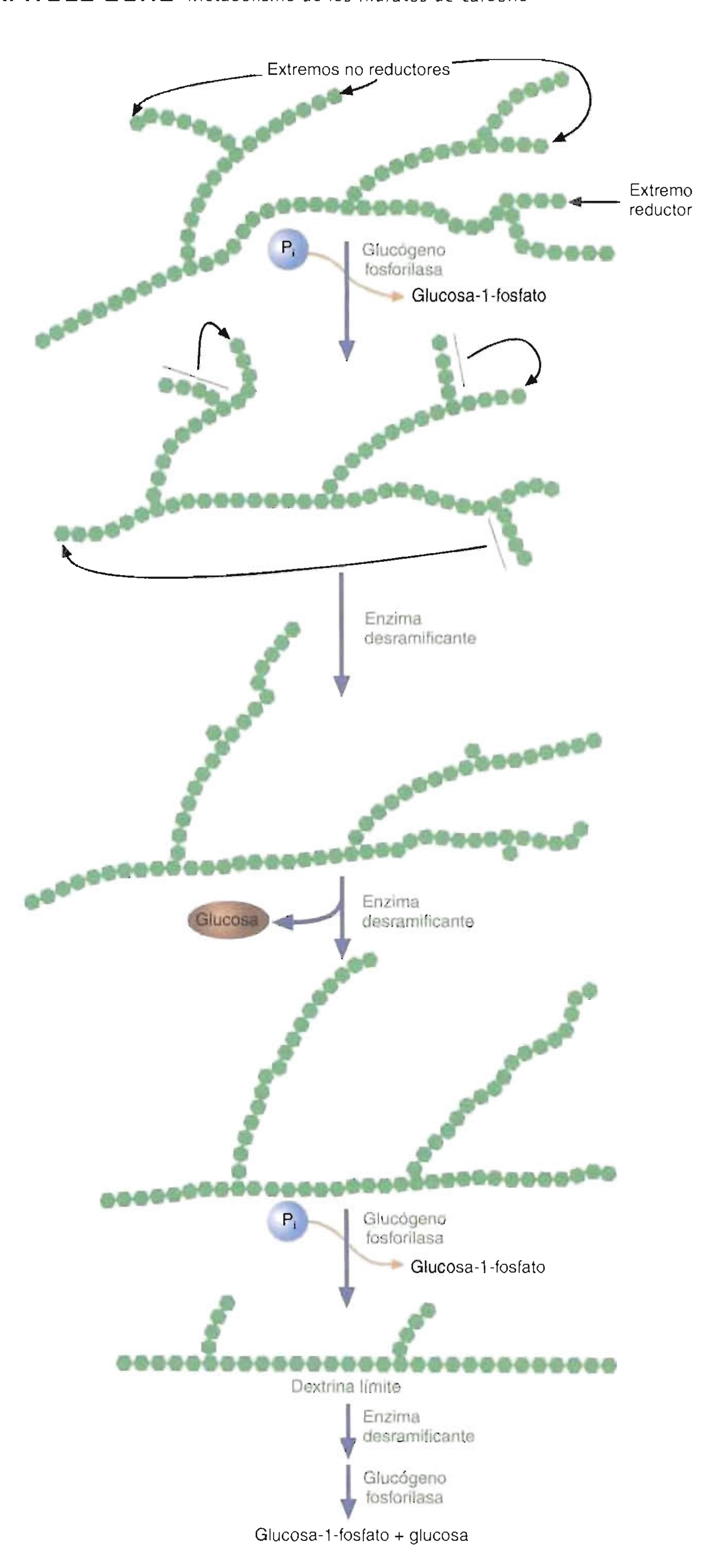


FIGURA 8-16

Degradación del glucógeno.

La glucógeno fosforilasa rompe los enlaces $\alpha(1,4)$ del glucógeno para producir glucosa-1-fosfato hasta que llega a cuatro residuos de glucosa de un punto de ramificación. La enzima desramificante transfiere tres de estos residuos a un extremo no reductor cercano y libera el cuarto residuo como glucosa libre. Las acciones repetidas de ambas enzimas pueden conducir a la degradación completa del glucógeno.

por cAMP. La síntesis de glucógeno tiene lugar cuando la glucógeno sintasa y la glucógeno fosforilasa se han desfosforilado. Esta conversión está catalizada por la fosfoproteína fosfatasa, que también inactiva a la fosforilasa quinasa. En la Figura 8.17 se resumen los principales factores de este complejo proceso.

Las enfermedades de almacenamiento de glucógeno se producen por defectos hereditarios de la síntesis o degradación del glucógeno. Los pacientes con la *enfermedad de Cori*, ocasionada por una deficiencia de la enzima desramificante, poseen hígados agrandados (*hepatomegalia*) y concentraciones sanguíneas de azúcar bajas (**hipoglucemia**). ¿Puede sugerir qué producen estos síntomas?



PREGUNTA 8.7

Receptor de insulina
Receptor de adrenalina
(–)
(+)
(+)
Receptor de glucagón
Hígado
Adenilato ciclasa
Músculo
ATP
cAMP
Proteína quinasa (inactiva) → Proteína quinasa (activa)
(+)
(+)
Fosforilasa quinasa (inactiva) → Fosforilasa quinasa (activa)
Ca^{2-}
Glucógeno sintasa (activa) → Glucógeno sintasa (inactiva)
Fosfoproteína fosfatasa
(+)
Fosfoproteína fosfatasa
(+)
Insulina
Glucógeno fosforilasa (inactiva) → Glucógeno fosforilasa (activa)
Glucógeno → Glucosa-1-fosfato
UTP
UDP-glucosa pirofosforilasa
PP_i
UDP-glucosa
Glucógeno sintasa (activa)

FIGURA 8-17

Principales factores que afectan al metabolismo del glucógeno.

La unión del glucagón (liberado por el páncreas como respuesta a un azúcar sanguíneo bajo) y/o la adrenalina (liberada por las glándulas suprarrenales como respuesta a la agresión) a sus receptores sobre la superficie de las células diana inicia una cascada de reacciones que convierten el glucógeno en glucosa-1-fosfato e inhiben la glucogénesis. La insulina inhibe la glucogenólisis y estimula la glucogénesis, en parte disminuyendo la síntesis de AMPc y activando la fosfoproteína fosfatasa.

RESUMEN

1. El metabolismo de los hidratos de carbono está dominado por la glucosa, ya que este azúcar es un combustible importante en la mayoría de los organismos. Si las reservas de energía son bajas, la glucosa se degrada mediante la ruta glucolítica. Las moléculas de glucosa que no se requieren para producir energía se almacenan en forma de glucógeno (en los animales) o en forma de almidón (en los vegetales).
2. Durante la glucólisis, la glucosa se fosforila y se fracciona para formar dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato. Cada gliceraldehído-3-fosfato se convierte posteriormente en una molécula de piruvato. Una pequeña cantidad de energía se captura en dos moléculas de ATP y NADH. En los organismos anaerobios, el piruvato se convierte en productos de desecho. Durante este proceso, se regenera el NAD^+, de forma que pueda continuar la glucólisis. En presencia de O_2, los organismos aerobios convierten el piruvato en acetil-CoA y luego en CO_2 y H_2O. La glucólisis se controla principalmente mediante la regulación alostérica de tres enzimas —hexoquinasa, PFK-1 y piruvato quinasa— y por las hormonas glucagón e insulina.
3. Durante la gluconeogénesis, se sintetizan moléculas de glucosa a partir de precursores que no son hidratos ce carbono (lactato, piruvato, glicerol y determinados aminoácidos). La secuencia de reacciones de la gluconeogénesis es, en gran medida, la inversa de la glucólisis. Las tres reacciones glucolíticas irreversibles (síntesis de piruvato, conversión de fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato y formación de glucosa a partir de glucosa-6-fosfato) se evitan por otras reacciones alternativas energéticamente favorables.
4. La ruta de las pentosas fosfato, en la que se oxida la glucosa-6-fosfato, se produce en dos fases. En la fase oxidativa se forman dos moléculas de NADPH al convertirse la glucosa-6-fosfato en ribulosa-5-fosfato. En la fase no oxidativa, se sintetiza ribosa-5-fosfato y otros azúcares. Cuando las células necesitan más NADPH que ribosa-5-fosfato, un componente de los nucleótidos y los ácidos nucleicos, entonces los metabolitos de la fase no oxidativa se convierten en intermediarios glucolíticos.
5. Varios azúcares diferentes de la glucosa son importantes en el metabolismo de los hidratos de carbono. Éstos son fructosa, galactosa y manosa.
6. El sustrato de la síntesis de glucógeno es la UDP-glucosa, una forma activada del azúcar. La UDP-glucosa pirofosforilasa cataliza la formación de UDP-glucosa a partir de glucosa-1-fosfato y ATP. La glucosa-6-fosfato se convierte en glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa. La formación de glucógeno requiere dos enzimas: glucógeno sintasa y enzima ramificante. La degradación de glucógeno requiere glucógeno fosforilasa y enzima desramificante. El equilibrio entre la glucogénesis (síntesis de glucógeno) y la glucogenólisis (degradación de glucógeno) está regulado de forma cuidadosa por varias hormonas (insulina, glucagón y adrenalina).

LECTURAS RECOMENDADAS

Fothergill-Gilmore, L.A., and Michels, P.A:, Evolution of Glycolysis, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 59:105-135, 1993.

Hallfrisch, J., Metabolic Effects of Dietary Fructose, *FASEB J.*, 4:2652-2660, 1990.

Lehmann, J., *Carbohydrates: Structure and Biology*, Thieme, New York, 1998.

Pilkus, S.J., Mahgrabi, M.R. and Claus, T.A., Hormonal Regulation of Hepatic Gluconeogenesis and Glycolysis, *Ann. Rev. Biochem*, 57:755-783, 1988.

Shulman, G.I., and Landau, B.R., Pathways of Glycogen Repletion, *Physiol. Rev.*, 72(4):1019-1035, 1992.

VanSchaftingen, E., Fructose-2,6-Bisphosphate, *Adv. Enzymol.*, 59:315-395, 1987.

PALABRAS CLAVE

antioxidantes, *256*
ciclo de Cori, *252*
ciclo del ácido cítrico, *243*
ciclo glucosa-alanina, *254*
descarboxilación, *245*
efecto Pasteur, *249*
escisión aldólica, *239*
fermentación, *243*
fosforilación a nivel del sustrato, *240*
glucogénesis, *235*
glucogenólisis, *235*
glucólisis, *235*
gluconeogénesis, *235*
hipoglucemia, *269*
lanzadera del malato, *251*
organismo anaerobio, *236*
respiración aerobia, *236*
ruta anfibólica, *235*
ruta de las pentosas fosfato, *235*
sistema de transporte electrónico, *243*
tautomerización, *242*
tautómero, *242*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Tras entrar en una célula, la glucosa se fosforila. Dé dos razones por las que se requiere esta reacción.
2. Describa las funciones de las siguientes moléculas:
   a. insulina
   b. glucagón
   c. fructosa-2,6-bisfosfato
   d. congéneres
   e. glutatión
   f. GSSG
   g. NADPH
3. Describa las diferencias estructurales entre la ribosa-5-fosfato y la ribulosa-5-fosfato.

4. ¿En qué lugares de la célula eucariota se producen los siguientes procesos?
   a. gluconeogénesis
   b. glucólisis
   c. ruta de las pentosas fosfato
5. Compare la entrada de sustratos, productos y objetivos metabólicos de la glucólisis y la gluconeogénesis.
6. Defina la fosforilación a nivel del sustrato. ¿Qué dos reacciones de la glucólisis se encuentran dentro de esta categoría?
7. ¿Cuál es la razón principal por la que los organismos como las levaduras producen alcohol?
8. ¿Por qué no se oxida el piruvato a CO_2 y H_2O en condiciones anaerobias?
9. Describa la forma en la que la adrenalina estimula la conversión de glucógeno en glucosa.
10. La glucólisis se produce en dos fases. Describa qué se realiza en cada fase.
11. ¿Qué efectos tienen las siguientes moléculas sobre la gluconeogénesis?
    a. lactato
    b. ATP
    c. piruvato
    d. glicerol
    e. AMP
    f. acetil-CoA
12. Describa las condiciones fisiológicas que activan la gluconeogénesis.
13. Las dos reacciones siguientes constituyen un ciclo derrochador:

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \rightarrow \text{glucosa-6-fosfato}$$

$$\text{Glucosa-6-fosfato} + H_2O \rightarrow \text{glucosa} + P_i$$

Sugiera cómo se evitan o controlan estos ciclos derrochadores.

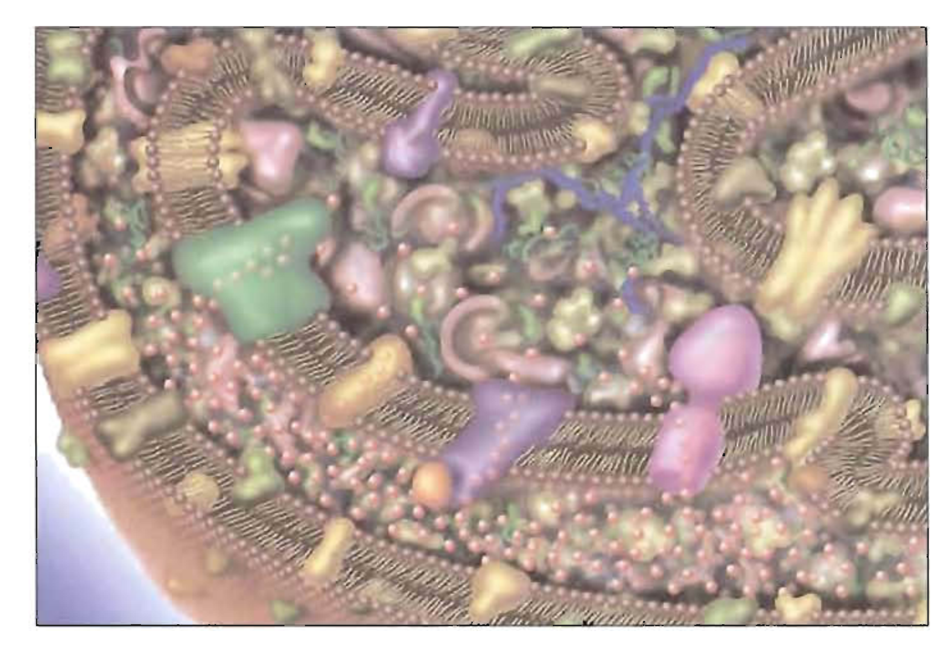
PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Una persona tiene una deficiencia genética que impide la producción de glucoquinasa. Tras una comida con hidratos de carbono, ¿espera que la concentración de glucosa en sangre sea elevada, baja o alrededor de lo normal? ¿Qué órgano acumula glucógeno en estas circunstancias?
2. La síntesis de glucógeno requiere una pequeña cadena cebadora. Explique, dada esta limitación, cómo se sintetizan las moléculas nuevas de glucógeno.
3. ¿Por qué se metaboliza la fructosa más rápidamente que la glucosa?
4. ¿Cuál es la diferencia entre un éster enol-fosfato y un éster fosfato normal que proporciona al PEP un potencial de transferencia de grupo fosfato tan elevado?
5. En la oxidación aerobia, el oxígeno es el agente oxidante último (aceptor electrónico). Nombre dos agentes oxidantes comunes en la fermentación anaerobia.
6. ¿Por qué es importante que la gluconeogénesis no sea la inversión exacta de la glucólisis?
7. Compare las fórmulas estructurales del etanol, el acetato y el acetaldehído. ¿Qué molécula está más oxidada? ¿Cuál es la más reducida? Explique sus respuestas.

CAPÍTULO NUEVE

Metabolismo aerobio I: ciclo del ácido cítrico

SUMARIO



En las células aerobias la mayor parte de la energía se genera dentro de las mitocondrias. El dioxígeno (O_2) es el aceptor electrónico final en la oxidación de las moléculas de nutrientes.

Hace unos 2000 millones de años, los procariotas como las cianobacterias comenzaron a crear una atmósfera oxigenada. El oxígeno que producían como producto de desecho de la fotosíntesis desencadenó una revolución en el mundo vivo. Muchos organismos fueron metabólicamente incapaces de aceptar las cantidades crecientes de esta molécula tan reactiva. Aunque muchas especies se extinguieron o fueron obligadas a aislarse en hábitats sin oxígeno, otras generaron mecanismos moleculares que les permitieron explotar el dioxígeno (O_2, frecuentemente denominado oxígeno) como medio para capturar energía. Los or≃ ∓ −ganismos aerobios modernos transducen la energía del enlace químico de las molé≪ culas de alimento en la energía del enlace del ATP utilizando el oxígeno como aceptor terminal de los electrones extraídos de las moléculas de alimento. La capacidad para utilizar el oxígeno y oxidar los nutrientes, como la glucosa y los ácidos grasos, proporciona una cantidad sustancialmente mayor de energía que la fermentación.

Al emerger sobre la Tierra las primeras formas primordiales de vida, éstas se mantuvieron utilizando moléculas orgánicas simples ya formadas como los ácidos carboxílicos y los aminoácidos. La fuente de estas sustancias, que se utilizaron como bloques de construcción y moléculas combustibles por los seres vivos primitivos, se cree que fueron las reacciones químicas impulsadas por las descargas eléctricas, la radiación solar y las fuerzas térmicas profundas del interior del planeta. Además, llegaron del espacio exterior incontables toneladas de materia química al ser bombardeada la Tierra por meteoritos y otros desechos cósmicos. Los primeros organismos (células procariotas primordiales) finalmente llegaron a ser tan abundantes que consumían las moléculas orgánicas a mayor velocidad de la que se formaban por las fuerzas naturales. Al menguar los suministros de moléculas ya formadas, algunos organismos produjeron mecanismos nuevos para obtener alimentos. Algunos organismos generaron la capacidad de sintetizar pigmentos fotosensibles que capturaban la energía luminosa y la convertían en energía de enlace químico. Este mecanismo, la fotosíntesis, tuvo un efecto impresionante y trascendente sobre el ambiente global. Hace unos 3000 millones de años, las células fotosintetizadoras comenzaron a producir su propio alimento utilizando la energía luminosa para transformar el CO_2 y el H_2O en moléculas orgánicas. El dioxígeno (O_2) es un producto secundario de este proceso. Al producirse la fotosíntesis en una escala cada vez mayor, aumentó el contenido de oxígeno de la atmósfera. Debido a que el O_2 se combina fácilmente con otras moléculas (p. ej., $4\ NH_3 + 3\ O_2 \rightarrow 2\ N_2 + 6\ H_2O$), la atmósfera de la Tierra se fue convirtiendo gradualmente (durante un tiempo de 1000 millones de años) en otra que contenía principalmente dinitrógeno, vapor de agua, dióxido de carbono y oxígeno. La mayoría de los seres vivos que surgieron en las condiciones reductoras de la Tierra primitiva no estaban preparados para vivir en una atmósfera oxidante. Las especies que sobrevivieron a la transición lo hicieron debido a que crearon métodos para autoprotegerse de los efectos tóxicos del oxígeno. Sus descendientes, los organismos actuales, utilizan alguna de las estrategias siguientes. Los **anaerobios estrictos**, organismos que sólo crecen en ausencia de oxígeno, evitan el gas viviendo en ambientes muy reducidos como el suelo. Utilizan procesos fermentadores para satisfacer sus requerimientos energéticos. Los **anaerobios tolerantes al aire**, que dependen también de la fermentación para sus necesidades energéticas, poseen enzimas destoxificantes y moléculas antioxidantes que les protegen de los productos tóxicos del oxígeno. Los **anaerobios facultativos** no sólo poseen los mecanismos necesarios para destoxificar a los metabolitos del oxígeno, sino que también pueden generar energía utilizando el oxígeno como aceptor electrónico cuando se encuentra presente el gas. Finalmente, los **aerobios estrictos** son muy dependientes del oxígeno para producir energía. Se protegen a sí mismos de las consecuencias potencialmente peligrosas de la exposición al oxígeno con mecanismos complejos formados por enzimas y moléculas antioxidantes.

Los anaerobios facultativos y los aerobios estrictos que utilizan el oxígeno para generar energía emplean los procesos bioquímicos siguientes: ciclo del ácido cítrico, ruta de transporte electrónico y fosforilación oxidativa. En los eucariotas estos procesos tienen lugar dentro de la mitocondria (Fig. 9.1). El ciclo del ácido cítrico es una ruta metabólica en la que los fragmentos de dos carbonos procedentes de las moléculas orgánicas combustibles se oxidan para formar CO_2, y las coenzimas NAD^+ y FAD se reducen para formar NADH y $FADH_2$, que actúan como transportadores electrónicos. La ruta de transporte electrónico, que también se denomina cadena de transporte electrónico (CTE), es un mecanismo mediante el cual los electrones se transfieren desde las coenzimas reducidas a un aceptor (normalmente el O_2). En la fosforilación oxidativa, la energía liberada por el transporte electrónico se captura en forma de gradiente de protones que impulsa la síntesis de ATP, la moneda de intercambio energético de los seres vivos. El Capítulo 9 comienza con una revisión de las reacciones de oxidación-reducción y la relación entre el flujo electrónico y la transducción de energía. Luego sigue una consideración detallada del ciclo del ácido cítrico, la ruta central del metabolismo aerobio, y sus funciones en la generación de energía, y la biosíntesis. En el Capítulo 10, continúa la consideración del metabolismo

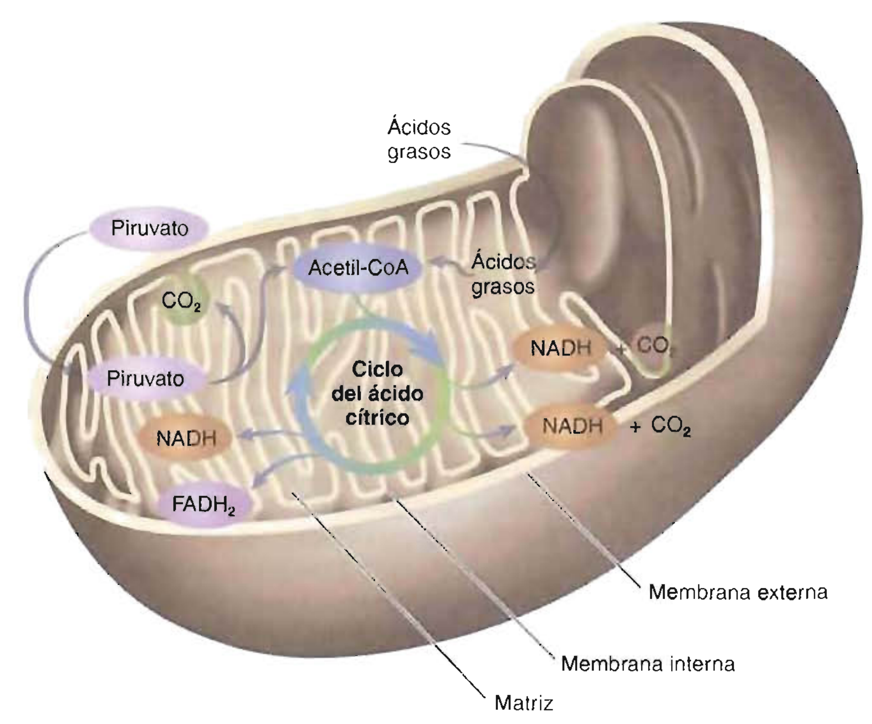


FIGURA 9-1

Metabolismo aerobio en la mitocondria.

En las células eucariotas, el metabolismo aerobio tiene lugar dentro de la mitocondria. La acetil-CoA, el producto de la oxidación del piruvato, los ácidos grasos y determinados aminoácidos (que no se muestran), se oxida por las reacciones del ciclo del ácido cítrico dentro de la matriz mitocondrial. Los productos principales del ciclo son las coenzimas reducidas NADH y $FADH_2$ y el CO_2. Los electrones de energía elevada del NADH y del $FADH_2$ se ceden a continuación a la cadena de transporte electrónico (CTE), un conjunto de transportadores de electrones de la membrana interna. El aceptor electrónico terminal de la CTE es el O_2. La energía que deriva del mecanismo de transporte electrónico impulsa la síntesis de ATP al crear un gradiente de protones a través de la membrana interna. La superficie plegada grande de la membrana interna está tachonada de complejos CTE, numerosos tipos de proteínas transportadoras y la ATP sintasa, el complejo enzimático responsable de la síntesis de ATP.

aerobio con la descripción del transporte electrónico y la fosforilación oxidativa, los medios mediante los cuales los organismos aerobios utilizan el oxígeno para generar cantidades significativas de ATP. Finaliza con una revisión de la *agresión oxidativa*, un conjunto de reacciones en las que los metabolitos tóxicos del oxígeno dañan la estructura y función de la célula, y los métodos que utilizan los seres vivos para protegerse.

9.1. REACCIONES DE OXIDACIÓN-REDUCCIÓN

En los seres vivos, tanto los procesos que capturan energía como los que la liberan constan en gran medida de reacciones redox. Recuerde que las reacciones redox se producen cuando se transfieren electrones entre un donador electrónico (reductor) y un aceptor electrónico (oxidante). En algunas reacciones redox sólo se transfieren electrones. Por ejemplo, en la reacción

$$Cu^+ + Fe^{3+} \rightleftharpoons Cu^{2+} + Fe^{2+}$$

se transfiere un electrón del Cu^+ al Fe^{3+}. El Cu^+, el reductor, se oxida para formar Cu^{2+}. Al tiempo, el Fe^{3+} se reduce a Fe^{2+}. Sin embargo, en muchas reacciones se transfieren electrones y protones. Por ejemplo, en la reacción catalizada por la lacta-

$$CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons CH_3-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- + \text{NAD}^+$$

FIGURA 9-2

Reducción del piruvato por el NADH.

En esta reacción redox, se transfieren electrones y protones.

to deshidrogenasa, se transfieren 2 protones (H^+) y 2 electrones al reducirse el piruvato para formar lactato y NAD^+ (Fig. 9-2).

Las reacciones redox se entienden mejor si se separan en dos semirreacciones. Por ejemplo, en la reacción entre el cobre y el hierro, el ion Cu^+ pierde un electrón para convertirse en Cu^{2+}:

$$Cu^+ \rightleftharpoons Cu^{2+} + e^-$$

Esta ecuación indica que el Cu^+ es el donador del electrón. (Juntos, el Cu^+ y el Cu^{2+} constituyen un **par redox conjugado.**) Al perder el Cu^+ un electrón, el Fe^{3+} gana un electrón para formar Fe^{2+}:

$$Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$$

En esta semirreacción, el Fe^{3+} es un aceptor de electrones. La separación de las reacciones redox resalta que los electrones siempre son los intermediarios comunes entre las semirreacciones.

Los constituyentes de las semirreacciones pueden observarse en una célula electroquímica (Fig. 9-3). Cada semirreacción tiene lugar en un contenedor individual o *semicélula*. El movimiento de electrones que se genera en la semicélula que experimenta la oxidación (p. ej., $Cu^+ \rightarrow Cu^{2+} + e^-$) origina un voltaje (o diferencia de potencial) entre las dos semicélulas. El signo del voltaje (que se mide con un voltímetro) es positivo o negativo según la dirección del flujo de electrones. La magnitud de la diferencia de potencial es una medida de la energía que impulsa la reacción.

La tendencia de una sustancia específica para perder o ganar electrones se denomina **potencial redox** o **de reducción**. El potencial redox de un par redox conjugado se mide en una célula electroquímica frente a un estándar de referencia, normalmente un electrodo estándar de hidrógeno. El potencial redox del electrodo estándar de hidrógeno es, por definición, 0.0 V a 1 atm. Las sustancias con un potencial de reducción más negativo transferirán los electrones a una sustancia con un potencial

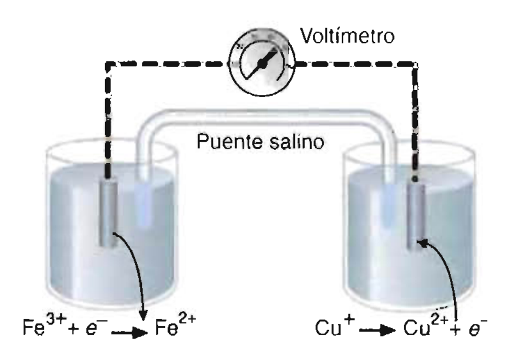


FIGURA 9-3

Célula electroquímica.

Los electrones fluyen desde el electrodo de cobre a través del voltímetro al electrodo de hierro. El puente salino que contiene KCl completa el circuito eléctrico. El voltímetro mide el potencial eléctrico al fluir los electrones desde una semicélula a la otra.

de reducción más positivo y la $\Delta E^{0\prime}$ será positiva. En bioquímica, la semirreacción de referencia es:

$$2\ H^+ + 2\ e^- \rightleftharpoons H_2$$

cuando

pH = 7
Temperatura = 25 °C
Presión = 1 atm

En estas condiciones el potencial de reducción del electrodo de hidrógeno es −0.42V cuando se mide frente al electrodo de hidrógeno estándar en el que $[H^+]$ es 1 M. Las sustancias con potenciales de reducción menores de −0.42 V (es decir, aquellas con valores más negativos) tienen una afinidad menor por los electrones que el H^+. Las sustancias con potenciales de reducción mayores (es decir, aquellas con valores más positivos) tienen una afinidad mayor por los electrones (Cuadro 9-1). (El pH en el electrodo de análisis es 7.0 para cada una de las semirreacciones redox y el pH del electrodo estándar de referencia es 0.)

Los electrones fluyen de forma espontánea desde las especies con un valor de $E^{0\prime}$ más negativo a las especies con un $E^{0\prime}$ más positivo, de forma que $\Delta E^{0\prime}$ es positiva. La relación entre $\Delta E^{0\prime}$ y $\Delta G^{0\prime}$ es

$$\Delta G^{0\prime} = -nF\ \Delta E^{0\prime}$$

CUADRO 9-1

Potenciales de reducción estándar*

Semirreacción redox	Potenciales de reducción estándar ($E^{0\prime}$) (V)
$2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow H_2$	−0.42
α-Cetoglutarato + CO_2 + $2\ H^+ + 2\ e^-$ → isocitrato	−0.38
$NAD^+ + H^+ + 2\ e^- \rightarrow NADH$	−0.32
$S + 2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow H_2S$	−0.23
$FAD + 2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow FADH_2$	−0.22
Acetaldehído + $2\ H^+ + 2\ e^-$ → etanol	−0.20
Piruvato + $2\ H^+ + 2\ e^-$ → lactato	−0.19
Oxalacetato + $2\ H^+ + 2\ e^-$ → malato	−0.166
$Cu^+ \rightarrow Cu^{2+} + e^-$	−0.16
Fumarato + $2\ H^+ + 2\ e^-$ → succinato	−0.031
Citocromo b (Fe^{3+}) + e^- → citocromo b (Fe^{2+})	+0.075
Citocromo c_1 (Fe^{3+}) + e^- → citocromo c_1 (Fe^{2+})	+0.22
Citocromo c (Fe^{3+}) + e^- → citocromo c (Fe^{2+})	+0.235
Citocromo a (Fe^{3+}) + e^- → citocromo a (Fe^{2+})	+0.29
$NO_3^- + 2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$	+0.42
$NO_2^- + 8\ H^+ + 6\ e^- \rightarrow NH_4^+ + 2\ H_2O$	+0.44
$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$	+0.77
$1/2\ O_2 + 2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow H_2O$	+0.82

* Por convenio, las reacciones redox se escriben con el agente reductor a la derecha del agente oxidante y el número de electrones que se transfieren. En este cuadro los pares redox se dan en orden creciente de valores de E_0'. Los valores de E_0' más negativos de un par redox son los que tienen menor afinidad por los electrones. Los valores más positivos de E_0' son los del par redox que tiene mayor afinidad por los electrones. En condiciones adecuadas, una semirreacción redox reduce cualquiera de las semirreacciones que se encuentran por debajo en el cuadro.

donde

$\Delta G^{0\prime}$ = energía libre estándar
n = número de electrones que se transfieren
F = constante de Faraday (96,485 J/V · mol)
$\Delta E^{0\prime}$ = diferencia del potencial de reducción entre el donador de electrones y el aceptor de electrones en condiciones estándar.

La mayor parte de la energía libre de las células aerobias se captura por el sistema de transporte electrónico mitocondrial (Capítulo 10). Durante este proceso, los electrones se transfieren desde un par redox con un potencial de reducción más negativo ($NADH/NAD^+$) a aquellos con potenciales de reducción más positivos. El último componente del sistema es el par $H_2O/½\,O_2$:

$$½\,O_2 + NADH + H^+ \longrightarrow H_2O + NAD^+$$

PREGUNTA 9.1

Utilizando el Cuadro 9-1 determine cuál de las siguientes reacciones procederá tal como está escrita:

$$CH_3CH_2OH + 2\text{ cit b }(Fe^{3+}) \longrightarrow CH_3CHO + 2\text{ cit b }(Fe^{2+}) + 2\,H^+$$

$$NO_2^- + H_2O + 2\text{ cit b }(Fe^{3+}) \longrightarrow 2\text{ cit b }(Fe^{2+}) + NO_3^- + 2\,H^+$$

PREGUNTA 9.2

¿Cuáles de las siguientes reacciones son reacciones redox? Para cada reacción redox identifique el oxidante y el reductor.

1. Glucosa + ATP ⟶ glucosa-1-fosfato + ADP
2. HOOC—CH(OH)—CH_2—COOH ⟶ HOOC—CH=CH—COOH + H_2O
3. Lactato + NAD^+ ⟶ piruvato + NADH + H^+
4. $NO_2^- + 8\,H^+ + 6\text{ cit b }(Fe^{2+}) \longrightarrow NH_4^+ + 2\,H_2O + 6\text{ cit b }(Fe^{3+})$
5. $CH_3CHO + NADH + H^+ \longrightarrow CH_3CH_2OH + NAD^+$

La energía libre que se libera al pasar el par de electrones desde el NADH al O_2 en condiciones estándar se calcula de la siguiente forma:

$$\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E^{0\prime} = -2(96.5\text{ kJ/V}\cdot\text{mol})[0.815 - (-0.32)] = -220\text{ kJ/mol}$$

Una porción significativa de la energía libre que se genera al moverse los electrones desde el NADH al O_2 en el sistema de transporte electrónico se utiliza para sintetizar ATP.

En varios procesos metabólicos, los electrones se mueven desde pares redox con potenciales de reducción más positivos a aquellos con potenciales de reducción más negativos. Evidentemente, se requiere energía. El ejemplo más destacado de este fenómeno es la fotosíntesis (Capítulo 13). Los organismos fotosintetizadores utilizan la energía luminosa capturada para impulsar los electrones desde los donadores electrónicos, como al agua, a los aceptores electrónicos con potenciales de reducción más negativos (Fig. 9-4). Los electrones energetizados regresan finalmente a los aceptores con potenciales de reducción más positivos, proporcionando de esta manera energía para la síntesis de ATP y la reducción del CO_2 para formar hidratos de carbono.

CONCEPTOS CLAVE 9.1

En los seres vivos, los procesos que capturan energía y los que la liberan constan principalmente de reacciones redox. En las reacciones redox los electrones se mueven entre un donador electrónico y un aceptor electrónico. En muchas reacciones se transfieren electrones y protones.

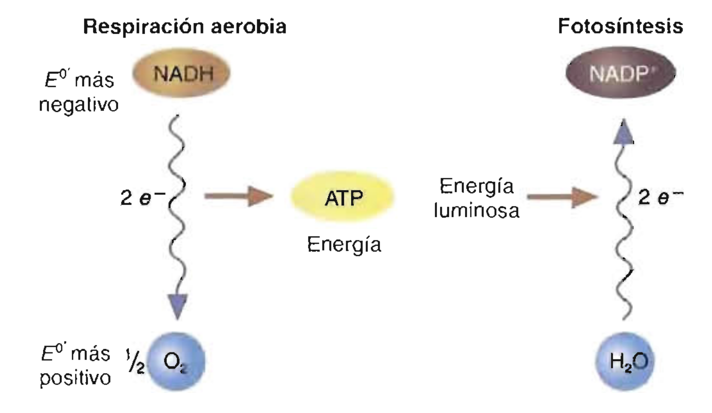


FIGURA 9-4

Flujo electrónico y energía.

El flujo electrónico puede utilizarse para generar y capturar energía en la respiración aerobia. La energía puede también utilizarse para impulsar el flujo electrónico en la fotosíntesis. (El $NADP^+$ es una versión más fosforilada del NAD^+.)

PROBLEMA 9.1

Utilice los potenciales de semicélula siguientes para calcular: (*a*) el potencial de célula global, y (*b*) $\Delta G^{0\prime}$.

$$\text{Succinato} + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow \text{fumarato} + H_2O$$

Las semirreacciones son

$$\text{Fumarato} + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow \text{succinato} \qquad (E_0' = -0.031\ \text{V})$$

$$\tfrac{1}{2}\,O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow H_2O \qquad (E_0 = +0.82\ \text{V})$$

Solución

Escriba una de las semirreacciones como una oxidación (es decir, la inversa de la ecuación) y sume las dos semirreacciones:

$$\text{Succinato} \longrightarrow \text{fumarato} + 2H^+ + 2e^- \qquad (E_0' = -0.031\ \text{V})\ \text{(oxidación)}$$

$$\tfrac{1}{2}\,O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow H_2O \qquad (E_0' = +0.82\ \text{V})\ \text{(reducción)}$$

La reacción neta es por lo tanto

$$\text{Succinato} + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow \text{fumarato} + H_2O$$

a) El potencial global es la suma de los potenciales de cada semicélula:

$$\Delta E_0' = E_0'\ \text{(aceptor electrónico)} - E_0'\ \text{(donador electrónico)}$$

$$\Delta E_0' = (+0.82\ \text{V}) - (-0.031\ \text{V}) = +0.82 + 0.031 = +0.85\ \text{V}$$

b) Utilice la fórmula para encontrar $\Delta G^{0\prime}$.

$$\Delta G^{0\prime} = nF\Delta E^{0\prime} = -(2)(96.5\ \text{kJ/V}\cdot\text{mol})(0.85\ \text{V})$$

$$= -164.05\ \text{kJ/mol} = -164\ \text{kJ/mol}$$

PREGUNTA 9.3

Dado que las reacciones redox desempeñan un papel importante en los procesos vivos, los bioquímicos necesitan determinar el estado de oxidación de los átomos de una molécula. En uno de los métodos el estado de oxidación de un átomo se determina asignando números a los átomos de carbono de acuerdo con el tipo de grupos unidos a ellos. Por ejemplo, a un enlace con un hidrógeno se le asigna el valor −1. Un enlace con otro átomo de carbono se valora como 0, y un enlace con un átomo electronegativo, como el oxígeno o el nitrógeno, se valora como +1. Los valores de un átomo de carbono en una molécula pueden variar entre −4 (p. ej., CH_4) a +4 (CO_2). Obsérvese que el metano es una molécula con energía elevada y el dióxido de carbono es una molécula con poca energía. Al cambiar el carbono su estado de oxidación desde −4 (metano) a +4 (dióxido de carbono) se libera una gran cantidad de energía. Este proceso es, por lo tanto, muy exotérmico.

El etanol se degrada en el hígado por un conjunto de reacciones redox. Identifique el estado de oxidación del átomo de carbono que se indica en cada molécula de la secuencia de reacción siguiente:

$$CH_3-\overset{\downarrow}{C}H_2-OH \longrightarrow CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H \longrightarrow CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$$

Etanol **Acetaldehído** **Ácido acético**

El CO_2 se incorpora a moléculas orgánicas durante la fotosíntesis, ¿se oxida o se reduce?

PREGUNTA 9.4

En la Sección 9.2 se contempla el ciclo del ácido cítrico. En esta ruta, que es la primera fase del metabolismo aerobio, la energía liberada por la oxidación de fragmentos de dos carbonos procedentes de la glucosa, los ácidos grasos y algunos aminoácidos se convierte en las coenzimas reducidas NADH y $FADH_2$.

9.2. CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

El ciclo del ácido cítrico (Fig. 9-5) es un conjunto de reacciones bioquímicas que utilizan los organismos aerobios para liberar la energía química almacenada en el grupo acetilo de dos carbonos de la acetil-CoA. Ésta está formada por un grupo acetilo que procede de la degradación de los hidratos de carbono, los lípidos y algunos aminoácidos, que está unido a la molécula transportadora de acilo **coenzima A** (Fig. 9-6). La acetil-CoA se sintetiza a partir de piruvato (un producto parcialmente oxidado de la degradación de los azúcares y determinados aminoácidos) en varias reacciones. La acetil-CoA también es el producto del catabolismo de los ácidos grasos (que se describe en el Capítulo 11) y de determinadas reacciones del metabolismo de los aminoácidos (Capítulo 15). En el ciclo del ácido cítrico, los átomos de carbono se oxidan a CO_2 y los electrones de energía elevada se transfieren al NAD^+ y al FAD para formar las coenzimas reducidas NADH y $FADH_2$, respectivamente.

En la primera reacción del ciclo del ácido cítrico, un grupo acetilo de dos carbonos se condensa con una molécula de cuatro carbonos (oxalacetato) para formar una molécula de seis carbonos (citrato) (Fig. 9-7). Durante las siete reacciones siguientes, en las que se producen dos moléculas de CO_2 y se eliminan cuatro pares de electrones de compuestos carbonados, el citrato se convierte de nuevo en oxalacetato. Durante un paso del ciclo, se produce la molécula de energía elevada guanosina trifosfato (GTP) durante una fosforilación a nivel de sustrato. La reacción neta del ciclo del ácido cítrico es:

$$\text{Acetil-CoA} + 3\ NAD^+ + FAD + GDP + P_i + 2\ H_2O \longrightarrow$$
$$2\ CO_2 + 3\ NADH + FADH_2 + CoASH + GTP + 3\ H^+$$

El ciclo del ácido cítrico desempeña otro papel importante en el metabolismo, además de su función en la producción de energía. Los intermediarios del ciclo son sustratos de diversas reacciones de síntesis. En el Cuadro 9-2 se da un resumen de las funciones de las coenzimas del ciclo del ácido cítrico.

Conversión del piruvato en acetil-CoA

Tras su transporte a la matriz mitocondrial, el piruvato se convierte en acetil-CoA en un conjunto de reacciones catalizadas por las enzimas del complejo piruvato deshidrogenasa. La reacción neta, una descarboxilación oxidativa, es la siguiente:

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + CoASH \longrightarrow \text{Acetil-CoA} + NADH + CO_2 + H_2O + H^+$$

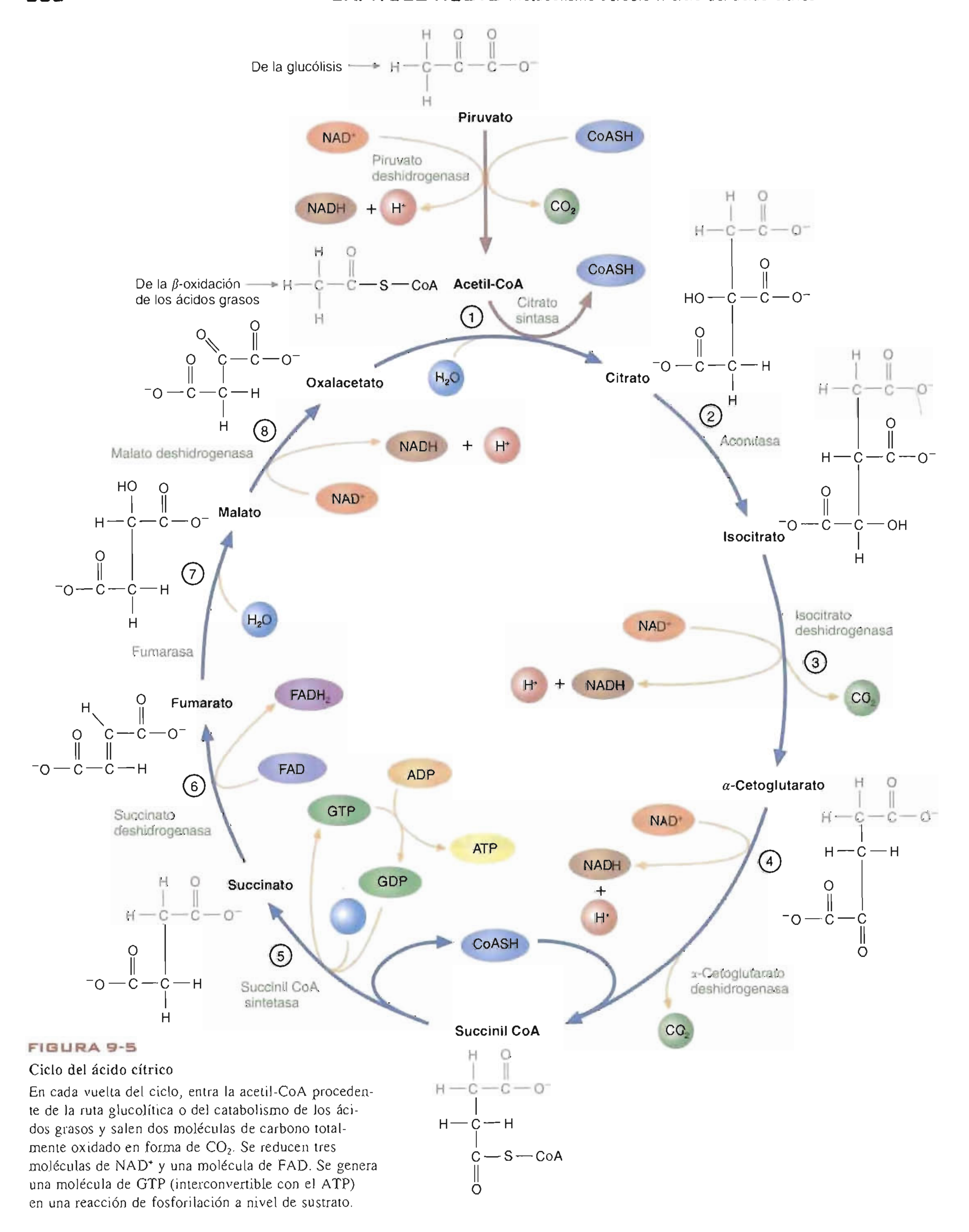


FIGURA 9-5

Ciclo del ácido cítrico

En cada vuelta del ciclo, entra la acetil-CoA procedente de la ruta glucolítica o del catabolismo de los ácidos grasos y salen dos moléculas de carbono totalmente oxidado en forma de CO_2. Se reducen tres moléculas de NAD^+ y una molécula de FAD. Se genera una molécula de GTP (interconvertible con el ATP) en una reacción de fosforilación a nivel de sustrato.

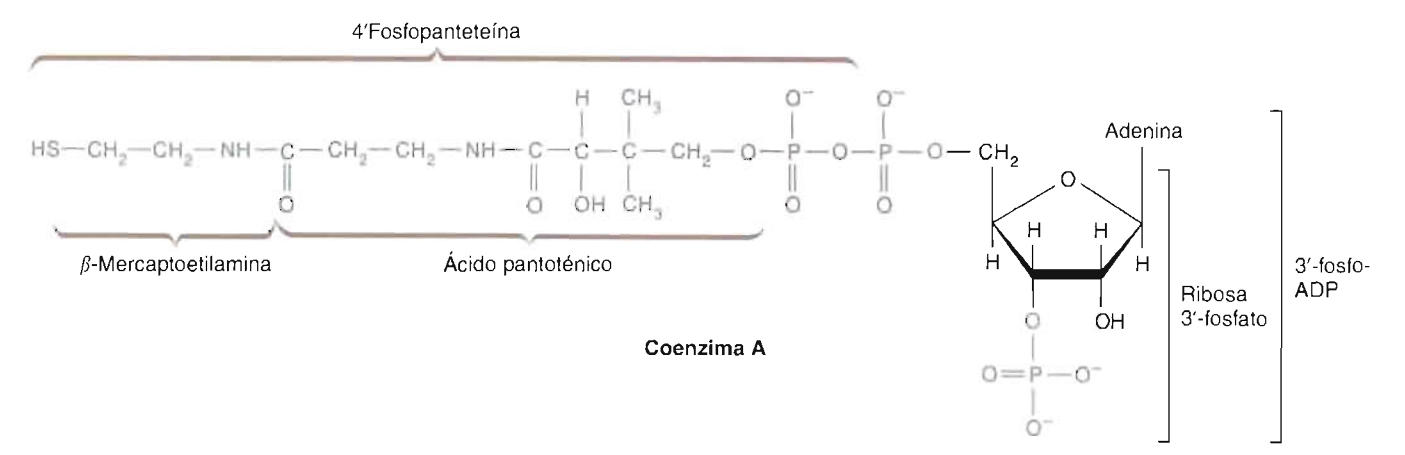


FIGURA 9-6
Coenzima A.
En la coenzima A un derivado 3' fosfato del ADP está unido al ácido pantoténico a través de un enlace éster fosfato. El grupo β-mercaptoetilamina de la coenzima A está unido al ácido pantoténico por un enlace amida. La coenzima A es un transportador de grupos acilo cuyo tamaño va desde el grupo acetilo hasta los ácidos grasos de cadena larga. Debido a que el grupo SH reactivo forma un enlace tioéster con los grupos acilo, la coenzima A suele abreviarse CoASH. El enlace carbono-azufre de un tioéster se rompe más fácilmente que el enlace carbono-oxígeno de un éster. Debido a que el enlace tioéster es más fácilmente hidrolizable que el enlace éster simple, la transferencia del grupo acilo está muy favorecida.

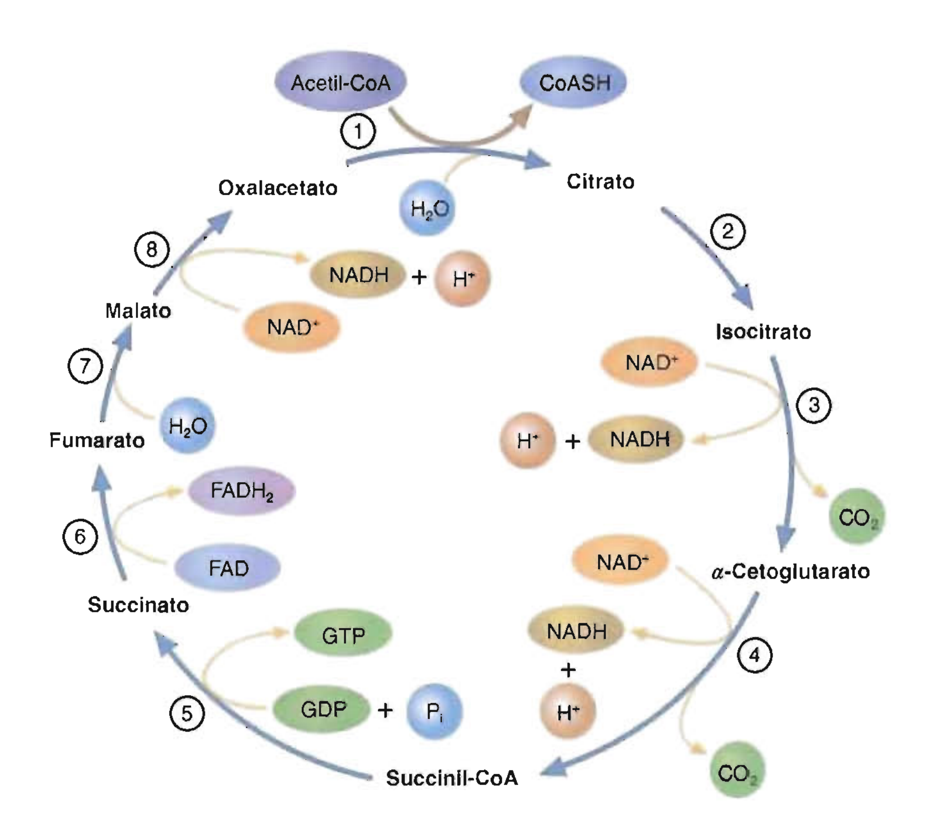


FIGURA 9-7
Principales reacciones del ciclo del ácido cítrico.
El oxalacetato, una molécula de cuatro carbonos, se condensa con la acetil-CoA para formar citrato, una molécula de seis carbonos. Luego, se forman dos moléculas de CO_2. Se forman también tres moléculas de NADH, una molécula de $FADH_2$, y una molécula de GTP.

A pesar de la simplicidad aparente de esta reacción muy exergónica ($\Delta G^{0\prime} = -33.5$ kJ/mol), su mecanismo es uno de los más complejos que se conocen. El complejo piruvato deshidrogenasa es una estructura multienzimática grande que contiene tres actividades enzimáticas: piruvato deshidrogenasa (E_1), conocida también como piruvato descarboxilasa, dihidrolipoil transacetilasa (E_2) y dihidrolipoil deshidrogenasa (E_3). Cada actividad enzimática está presente en varias copias. En el Cuadro 9-3

CUADRO 9-2

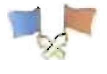
Resumen de las coenzimas del ciclo del ácido cítrico

Coenzima	Funciones
Tiamina pirofosfato (TPP)	Descarboxilación y transferencia de grupos aldehído
Ácido lipoico	Transportador de grupos hidrógeno o acetilo
NADH	Transportador electrónico
$FADH_2$	Transportador electrónico
Coenzima A (CoASH)	Transportador de grupos acetilo

se resume el número de copias de cada enzima y las coenzimas que requiere el complejo piruvato deshidrogenasa de *E. coli.*

En el primer paso, la piruvato deshidrogenasa cataliza la descarboxilación del piruvato. Se forma un nucleófilo cuando un residuo básico de la enzima extrae un protón del anillo de tiazol de la tiamina pirofosfato (TPP). Se forma el intermediario, hidroxietil-TPP (HETPP), tras el ataque del anillo nucleófilo de tiazol al grupo carbonilo del piruvato con la pérdida de CO_2 (Fig. 9-8).

En los pasos siguientes, el grupo hidroxietilo del HETPP se convierte en acetil-CoA por la dihidrolipoil transacetilasa. El ácido lipoico (Fig. 9-9) desempeña un papel crucial en esta transformación. El ácido lipoico está unido a la enzima a través de un enlace amida con el grupo ε-amino de un residuo de lisina. Reacciona con el HETPP para formar un ácido lipoico acetilado y TPP libre. El grupo acetilo se transfiere a continuación al grupo sulfhidrilo de la coenzima A. Posteriormente, el ácido lipoico reducido se vuelve a oxidar por la dihidrolipoil deshidrogenasa. El $FADH_2$ se vuelve a oxidar por el NAD^+ (con su potencial de reducción más negativo) para formar el FAD que se requiere para la oxidación del siguiente residuo de ácido lipoico reducido.



La actividad de la piruvato deshidrogenasa está regulada por dos mecanismos: inhibición por el producto y modificación covalente (Sección 6.5). El complejo enzimático se activa alostéricamente por el NAD^+, la CoASH y el AMP. Se inhibe por concentraciones elevadas de ATP y los productos de la reacción acetil-CoA y NADH. En los vertebrados, estas moléculas activan también una quinasa, que convierte el complejo piruvato deshidrogenasa activo en una forma fosforilada inactiva. Las elevadas concentraciones de los sustratos piruvato, CoASH y NAD^+ inhiben la actividad de la quinasa. El complejo piruvato deshidrogenasa se reactiva por una reacción de desfosforilación catalizada por una fosfoproteína fosfatasa. La fosfoproteína fosfatasa se activa cuando la concentración mitocondrial de ATP es baja.

CONCEPTOS CLAVE 9.2

El piruvato se convierte en acetil-CoA por las enzimas del complejo piruvato deshidrogenasa. Las coenzimas que se requieren son TPP, FAD, NAD^+ y ácido lipoico.

CUADRO 9-3

Complejo piruvato deshidrogenasa de *E. coli*

Actividad enzimática	Función	N.º de copias por complejo*	Coenzimas
Piruvato deshidrogenasa (E_1)	Descarboxila al piruvato	24 (20-30)	TPP
Dihidrolipoil transacetilasa (E_2)	Cataliza la transferencia del grupo acetilo a la CoASH	24 (60)	Ácido lipoico, CoASH
Dihidrolipoil deshidrogenasa (E_3)	Oxida de nuevo a la dihidrolipoamida	12 (20-30)	NAD^+, FAD

* En paréntesis se presenta el número de moléculas de cada actividad enzimática que se encuentra en la piruvato deshidrogenasa de mamíferos.

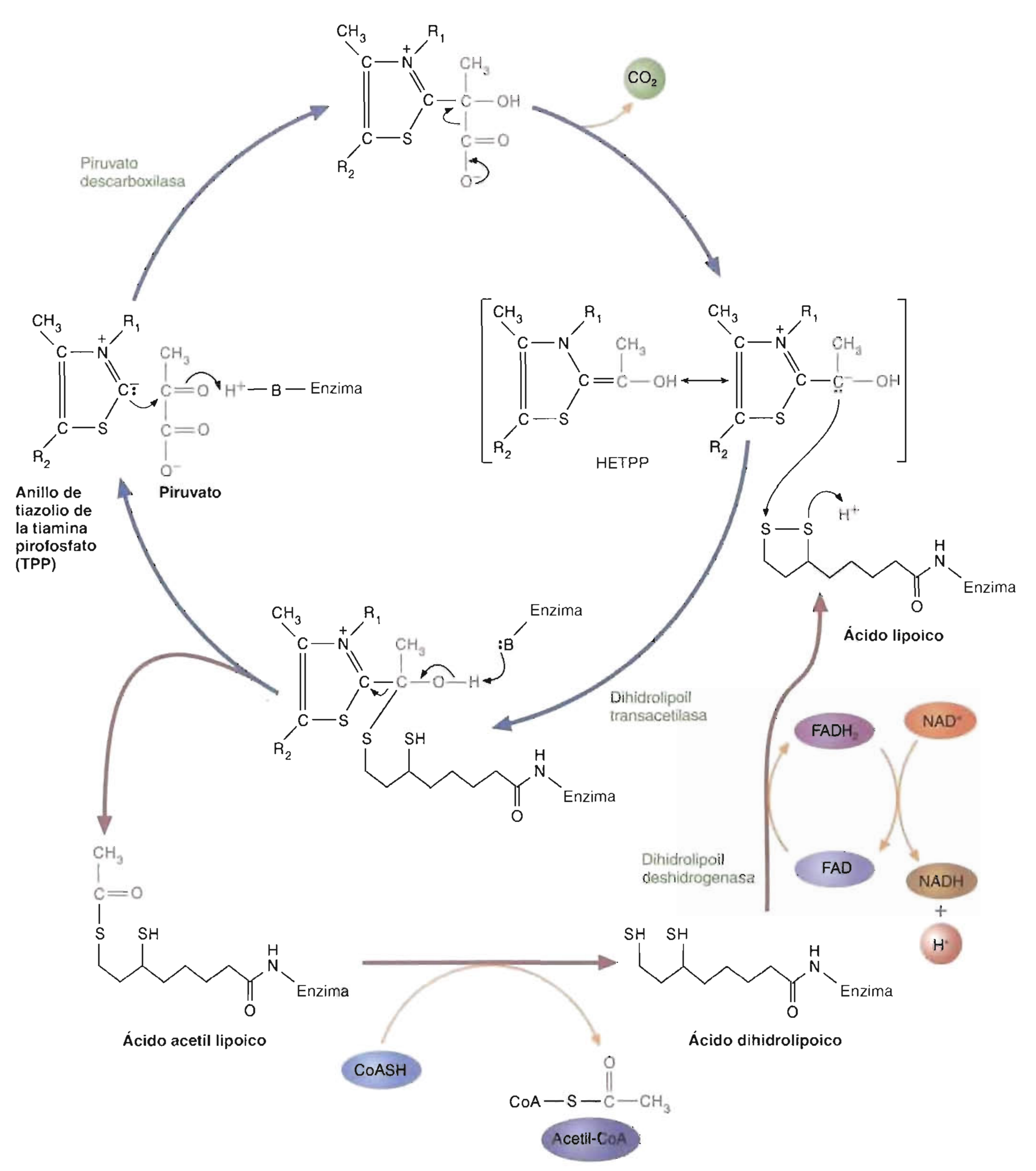


FIGURA 9-8

Reacciones catalizadas por el complejo piruvato deshidrogenasa.

La piruvato carboxilasa, que contiene TPP, cataliza la formación de HETPP. Utilizando como cofactor ácido lipoico, la dhidrolipoil transacetilasa convierte el grupo hidroxietilo del HETPP en acetil-CoA. La dihidrolipoil deshidrogenasa vuelve a oxidar el ácido lipoico reducido. (Consulte la Fig. 9-9 para la estructura del ácido lipoico.)

FIGURA 9-9

Lipoamida.

El ácido lipoico está unido de forma covalente a la enzima a través de un enlace amida con el grupo ε-amino de un residuo de lisina.

Ácido α-lipoico

Cadena proteica

Reacciones del ciclo del ácido cítrico

El ciclo del ácido cítrico está formado por ocho reacciones que tienen lugar en dos fases:

1. El grupo acetilo de dos carbonos de la acetil-CoA entra en el ciclo al reaccionar con el compuesto de cuatro carbonos oxalacetato (reacciones 1-4). A continuación se liberan dos moléculas de CO_2.
2. El oxalacetato se regenera de forma que pueda reaccionar con otra acetil-CoA (reacciones 5-8).

Las reacciones del ciclo del ácido cítrico son como sigue:

1. Introducción de dos carbonos como acetil-CoA. El ciclo del ácido cítrico comienza con la condensación de la acetil-CoA con el oxalacetato para formar citrato:

Acetil-CoA + Oxalacetato + H_2O —(Citrato sintasa)→ Citrato + CoASH + H^+

Obsérvese que esta reacción es una condensación aldólica. En esta reacción la enzima separa un protón del grupo metilo de la acetil-CoA, convirtiéndola de esta manera en un carbanión. El carbanión metilo nucleófilo a continuación ataca al carbono carbonílico del oxalacetato. El producto, la citroil-CoA, se hidroliza rápidamente para formar citrato y CoASH. Debido a la hidrólisis del enlace tioéster de energía elevada, la variación de energía libre estándar global es igual a −33.5 kJ/mol, y la formación de citrato es muy exergónica.

2. El citrato se isomeriza para formar un alcohol secundario que puede oxidarse fácilmente. En la reacción siguiente del ciclo, el citrato, que contiene un alcohol terciario, se convierte de forma reversible en isocitrato por la aconitasa. Durante esta reacción de isomerización, se forma por deshidratación un intermediario denominado *cis*-aconitato. El doble enlace carbono-carbono del *cis*-aconitato se rehidrata a continuación para formar el alcohol secundario más reactivo, isocitrato.

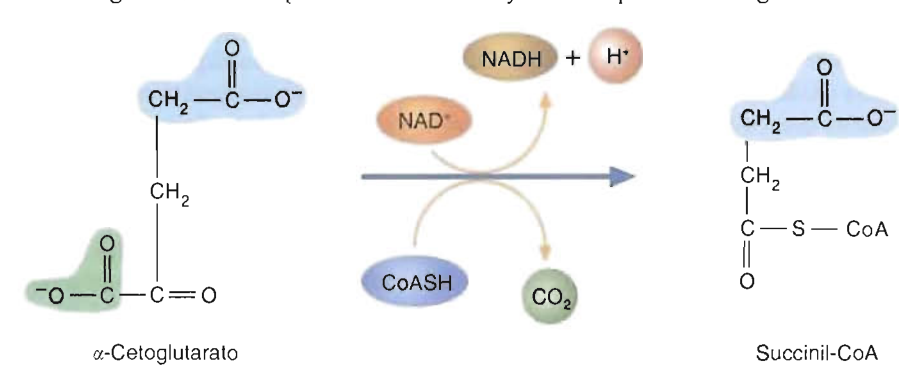
Citrato cis-Aconitato Isocitrato

3. El isocitrato se oxida para formar NADH y CO_2. La descarboxilación oxidativa del isocitrato, que cataliza la isocitrato deshidrogenasa, se produce en dos pasos. En el primero, el isocitrato se oxida para formar oxalsuccinato, un intermediario transitorio:

Isocitrato Oxalsuccinato α-Cetoglutarato

La descarboxilación inmediata del oxalsuccinato da lugar a la formación de α-cetoglutarato, un α-cetoácido. Existen en los mamíferos dos formas de isocitrato deshidrogenasa. La isoenzima que requiere NAD^+ sólo se encuentra en las mitocondrias. La otra isoenzima, que requiere $NADP^+$, se encuentra tanto en la matriz mitocondrial como en el citoplasma. En algunas circunstancias la última enzima se utiliza dentro de ambos compartimientos para generar NADPH, que se requiere en los procesos de biosíntesis. Obsérvese que el NADH producido en la conversión del isocitrato en α-cetoglutarato es el primer enlace entre el ciclo del ácido cítrico y la CTE, y la fosforilación oxidativa.

4. El α-cetoglutarato se oxida para formar una segunda molécula de NADH y de CO_2. La conversión del α-cetoglutarato en succinil-CoA está catalizada por las actividades enzimáticas del complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa: α-cetoglutarato deshidrogenasa, dihidrolipoil transsuccinilasa y dihidrolipoil deshidrogenasa.



Esta reacción muy exergónica ($\Delta G°' = -33.5$ kJ/mol), una descarboxilación oxidativa, es análoga a la conversión del piruvato en acetil-CoA, que cataliza la piruvato

deshidrogenasa. En ambas reacciones, los productos son moléculas de tioéster con energía abundante, esto es, acetil-CoA y succinil-CoA. Otras semejanzas entre los dos complejos multienzimáticos son que se requieren los mismos cofactores (TPP, CoASH, ácido lipoico, NAD^+ y FAD) y que son inhibidores los mismos o semejantes efectores alostéricos. La α-cetoglutarato deshidrogenasa se inhibe por la succinil-CoA, el NADH, el ATP y el GTP. Una diferencia importante entre los dos complejos es que el mecanismo de control del complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa no implica una modificación covalente.

5. La ruptura de la succinil-CoA está acoplada a una fosforilación a nivel de sustrato. La ruptura del enlace tioéster de energía elevada de la succinil-CoA para formar succinato, que cataliza la succinato tioquinasa, está acoplada en los mamíferos a la fosforilación a nivel de sustrato del GDP. En otros organismos, se fosforila el ADP.

Succinil-CoA + GDP + P_i ⇌ Succinato + GTP + CoASH

El ATP se sintetiza en la reacción siguiente, que cataliza la nucleósido difosfato quinasa:

GTP + ADP ⇌ GDP + ATP

6. La molécula de cuatro carbonos succinato se oxida para formar fumarato y $FADH_2$. La succinato deshidrogenasa cataliza la oxidación del succinato para formar fumarato:

Succinato + FAD ⇌ Fumarato + $FADH_2$

De forma diferente a otras enzimas del ciclo del ácido cítrico, la succinato deshidrogenasa no se encuentra dentro de la matriz mitocondrial, sino que está firmemente unida a la membrana mitocondrial interna. La oxidación de un alqueno requiere un agente oxidante más fuerte que el NAD^+. La succinato deshidrogenasa es una flavoproteína que emplea el FAD para impulsar la oxidación del succinato a fumarato. (En la reacción completa los electrones donados al FAD unido covalentemente a la succinato deshidrogenasa pasan a continuación a la coenzima Q, un componente de la CTE. La $\Delta G^{\circ\prime}$ para este proceso es de −5.6 kJ/mol.) La succinato deshidrogenasa se activa por concentraciones elevadas de succinato, ATP y P_i, y se inhibe por el oxalacetato. Recuerde que la enzima también se inhibe por el malonato, un análogo estructural del succinato. (Este inhibidor fue utilizado por Hans Krebs en sus trabajos pioneros sobre el ciclo del ácido cítrico.)

7. Hidratación del fumarato. El fumarato se convierte en L-malato en una hidratación estereoespecífica reversible catalizada por la fumarasa (que también se denomina fumarato hidratasa):

Fumarato + H_2O ⇌ L-Malato

8. **El malato se oxida para formar oxalacetato y un tercer NADH**. Finalmente, el oxalacetato se regenera con la oxidación del L-malato:

L-Malato + NAD^+ ⇌ Oxalacetato + NADH + H^+

La malato deshidrogenasa utiliza como agente oxidante el NAD^+ en una reacción muy endergónica ($\Delta G^{0\prime}$ = +29 kJ/mol). La reacción es empujada hasta que se completa debido a la eliminación del oxalacetato en la siguiente vuelta del ciclo.

CONCEPTOS CLAVE 9.3

El ciclo del ácido cítrico comienza con la condensación de una molécula de acetil-CoA con el oxalacetato para formar citrato, que posteriormente se vuelve a convertir en oxalacetato. Durante este proceso se producen dos moléculas de CO_2, tres moléculas de NADH, una molécula de $FADH_2$ y una molécula de GTP.

Destino de los átomos de carbono en el ciclo del ácido cítrico

En cada vuelta del ciclo del ácido cítrico entran dos átomos de carbono como grupo acetilo de la acetil-CoA y se liberan dos moléculas de CO_2. Una revisión cuidadosa de la Figura 9-5 descubre que los dos átomos de carbono que se liberan en forma de moléculas de CO_2 no son los mismos dos carbonos que han entrado en el ciclo, sino que los átomos de carbono liberados proceden del oxalacetato que reaccionó con la acetil-CoA entrante. Los átomos de carbono entrantes consecuentemente forman la mitad del succinato. Debido a la estructura asimétrica del succinato, los átomos de carbono que derivan del grupo acetilo entrante finalmente se distribuyen en todas las moléculas que proceden del succinato. Por consiguiente, los átomos de carbono que entran se liberan como CO_2 sólo tras dos o más vueltas del ciclo.

PREGUNTA 9.5

Siga el camino del carbono marcado en el $CH_3{}^{14}C(=O)$-SCoA a través de una vuelta del ciclo del ácido cítrico. Tras observar la Figura 9-5 sugiera por qué se requieren más de dos vueltas del ciclo para que todos los átomos de carbono marcados se liberen como $^{14}CO_2$.

Ciclo del ácido cítrico anfibólico

Las rutas anfibólicas pueden actuar como procesos anabólicos o catabólicos. El ciclo del ácido cítrico es obviamente catabólico, dado que los grupos acetilo se oxidan para formar CO_2 y la energía se conserva en las moléculas de coenzima reducidas. El ciclo del ácido cítrico es también anabólico, dado que varios intermediarios del ciclo del ácido cítrico son precursores de rutas de biosíntesis (Fig. 9-10). Por ejemplo, el oxalacetato se utiliza en la gluconeogénesis (Capítulo 8) y en la síntesis de los

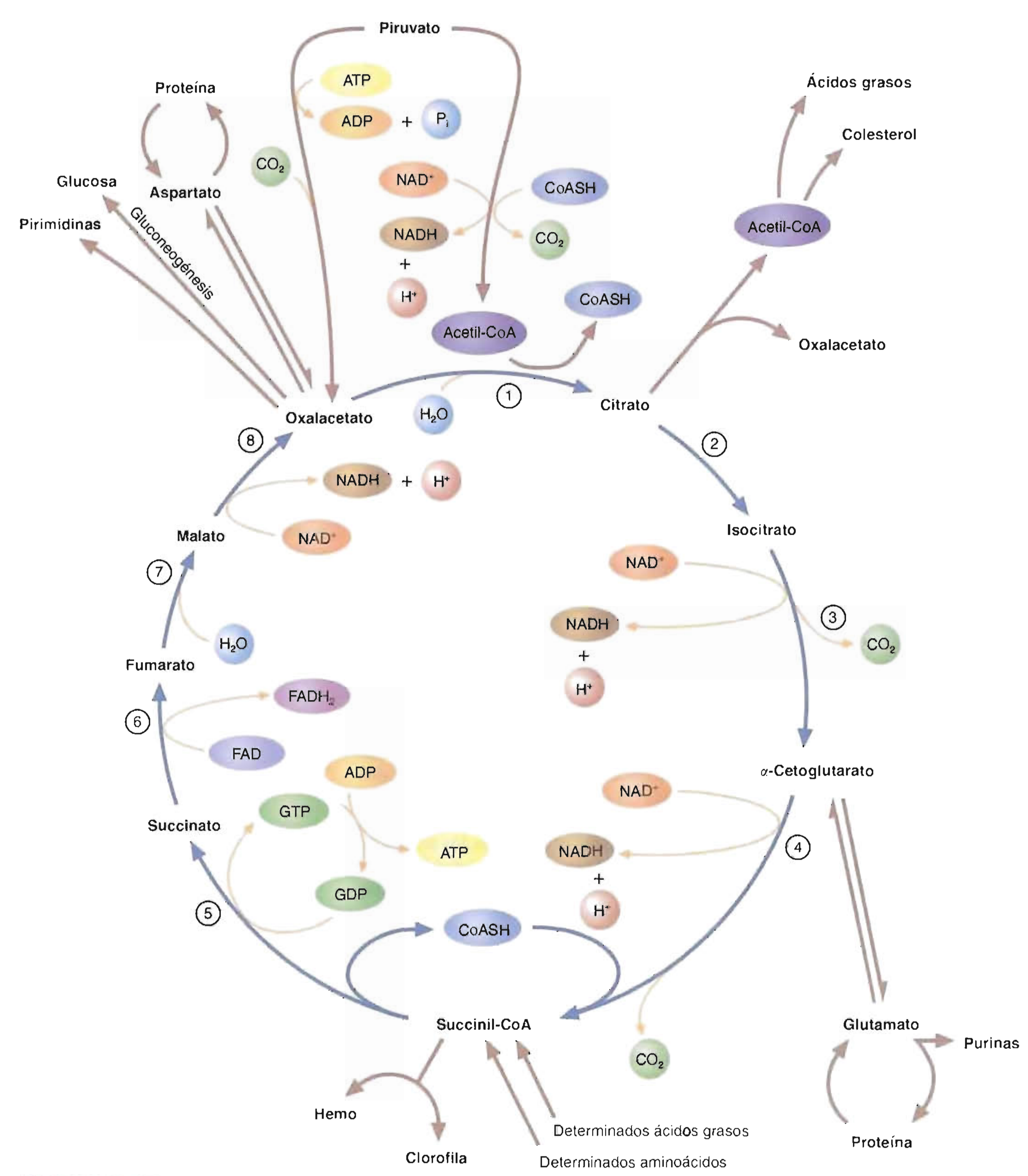


FIGURA 9-10

Ciclo del ácido cítrico anfibólico.

El ciclo del ácido cítrico opera en procesos anabólicos (p. ej., síntesis de ácidos grasos, colesterol, hemo y glucosa) y procesos catabólicos (p. ej., degradación de los aminoácidos y producción de energía).

aminoácidos (Capítulo 14). El α-cetoglutarato desempeña también un papel importante en la síntesis de aminoácidos. La síntesis de porfirinas como el hemo utiliza la succinil-CoA (Capítulo 14). Finalmente, la síntesis de los ácidos grasos y del colesterol en el citoplasma requiere acetil-CoA (Capítulo 12).

Los procesos anabólicos extraen del ciclo del ácido cítrico moléculas que se requieren para mantener su función en la generación de energía. Varias reacciones, denominadas **anapleróticas**, lo rellenan. Una de las reacciones anapleróticas más importante es la que cataliza la piruvato carboxilasa. Una concentración elevada de acetil-CoA, un indicador de concentración insuficiente de oxalacetato, activa la piruvato carboxilasa. Como consecuencia, aumenta la concentración de oxalacetato. El exceso de oxalacetato que no se utiliza dentro del ciclo del ácido cítrico se emplea en la gluconeogénesis (Capítulo 8). Otras reacciones anapleróticas son la síntesis de succinil-CoA a partir de determinados ácidos grasos (Capítulo 12) y los α-cetoácidos, α-cetoglutarato y oxalacetato, a partir de los aminoácidos glutamato y aspartato, respectivamente, mediante reacciones de transaminación (Capítulo 14).

CONCEPTOS CLAVE 9.4

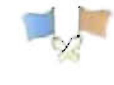
El ciclo del ácido cítrico es una ruta anfibólica; es decir, actúa tanto en el catabolismo como en el anabolismo. Los intermediarios del ciclo del ácido cítrico que se utilizan en los procesos anabólicos se reponen mediante varias reacciones anapleróticas.

PREGUNTA 9.6



La deficiencia de piruvato carboxilasa es normalmente una enfermedad mortal debido a la ausencia de la enzima o a una enzima defectuosa que convierte el piruvato en oxalacetato. Se caracteriza por grados variables de retraso mental y alteraciones de varias rutas metabólicas, especialmente las que corresponden a los aminoácidos y sus productos de degradación. Un síntoma destacado de esta enfermedad es la *aciduria láctica* (ácido láctico en la orina). Tras revisar la función de la pirvato carboxilasa, explique por qué se produce este síntoma.

Regulación del ciclo del ácido cítrico



El ciclo del ácido cítrico está regulado con precisión de forma que se satisfagan constantemente los requerimientos energéticos y de biosíntesis de la célula. La regulación se consigue principalmente por la modulación de enzimas clave y la disponibilidad de determinados sustratos. Dado su papel destacado en la producción de energía, el ciclo depende también de un aporte continuo de NAD^+, FAD y ADP.

Las enzimas del ciclo del ácido cítrico citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa están estrechamente reguladas dado que catalizan reacciones que representan importantes puntos de ramificación metabólicos (Fig. 9-11).

La citrato sintasa, la primera enzima del ciclo, cataliza la formación de citrato a partir de acetil-CoA y oxalacetato. Dado que la concentración de acetil-CoA y de oxalacetato son bajas en la mitocondria con relación a la cantidad de la enzima, cualquier aumento de la disponibilidad del sustrato estimula la síntesis de citrato. (En estas condiciones la reacción es de primer orden con respecto al sustrato. Por lo tanto, la velocidad de la síntesis de citrato está influenciada por las variaciones de las concentraciones de acetil-CoA y oxalacetato.) Las concentraciones elevadas de succinil-CoA (un producto intermediario «lejano» del ciclo) y de citrato inhiben la citrato sintasa actuando como inhibidores alostéricos. Otros reguladores alostéricos de esta reacción son el NADH y el ATP, cuyas concentraciones reflejan el estado energético celular del momento. Una célula en reposo posee cocientes elevados de $NADH/NAD^+$ y ATP/ADP. Al activarse metabólicamente una célula, las concentraciones de NADH y ATP descienden, y como consecuencia se hacen más activas las enzimas como la citrato sintasa.

La isocitrato deshidrogenasa cataliza la segunda reacción del ciclo muy regulada. Su actividad se estimula por las concentraciones relativamente elevadas de ADP y NAD^+ y se inhibe por el ATP y el NADH. La isocitrato deshidrogenasa está muy regulada debido a su importante papel en el metabolismo del citrato (Fig. 9-12). Como se ha descrito anteriormente, la conversión de citrato en isocitrato es reversible. Una mezcla de equilibrio de las dos moléculas consta en gran medida de citrato. (La reacción se impulsa hacia delante debido a que el isocitrato se transforma rápi-

Piruvato

Inhibida por
Acetil-CoA
ATP
y
NADH

Piruvato
deshidrogenasa
CO_2

CO_2
Piruvato
carboxilasa
ATP
ADP
Estimulada por
Acetil-CoA

Acetil-CoA
CoASH
Citrato
sintasa

Oxalacetato
H_2O
Inhibida por
succinil CoA, citrato
NADH y ATP
Citrato

Isocitrato
Inhibida por
NADH y ATP
Activada por
NAD+ y ADP
Isocitrato
deshidrogenasa
CO_2

α-Cetoglutarato

Inhibida por
succinil-CoA y
NADH
α-Cetoglutarato
deshidrogenasa
CO_2

Succinil-CoA
CoASH

Succinato

Fumarato
H_2O

Malato

FIGURA 9-11

Control del ciclo del ácido cítrico.

Se indican los principales lugares reguladores del ciclo. En color se muestran los activadores y los inhibidores de las enzimas reguladas.

damente en α-cetoglutarato.) De las dos moléculas, sólo el citrato puede penetrar en la membrana mitocondrial interna. (Cuando se mueven al citoplasma un número sustancial de moléculas de citrato, el requerimiento energético de la célula es bajo.) El transporte del citrato se utiliza para sacar fuera de la mitocondria a la acetil-CoA



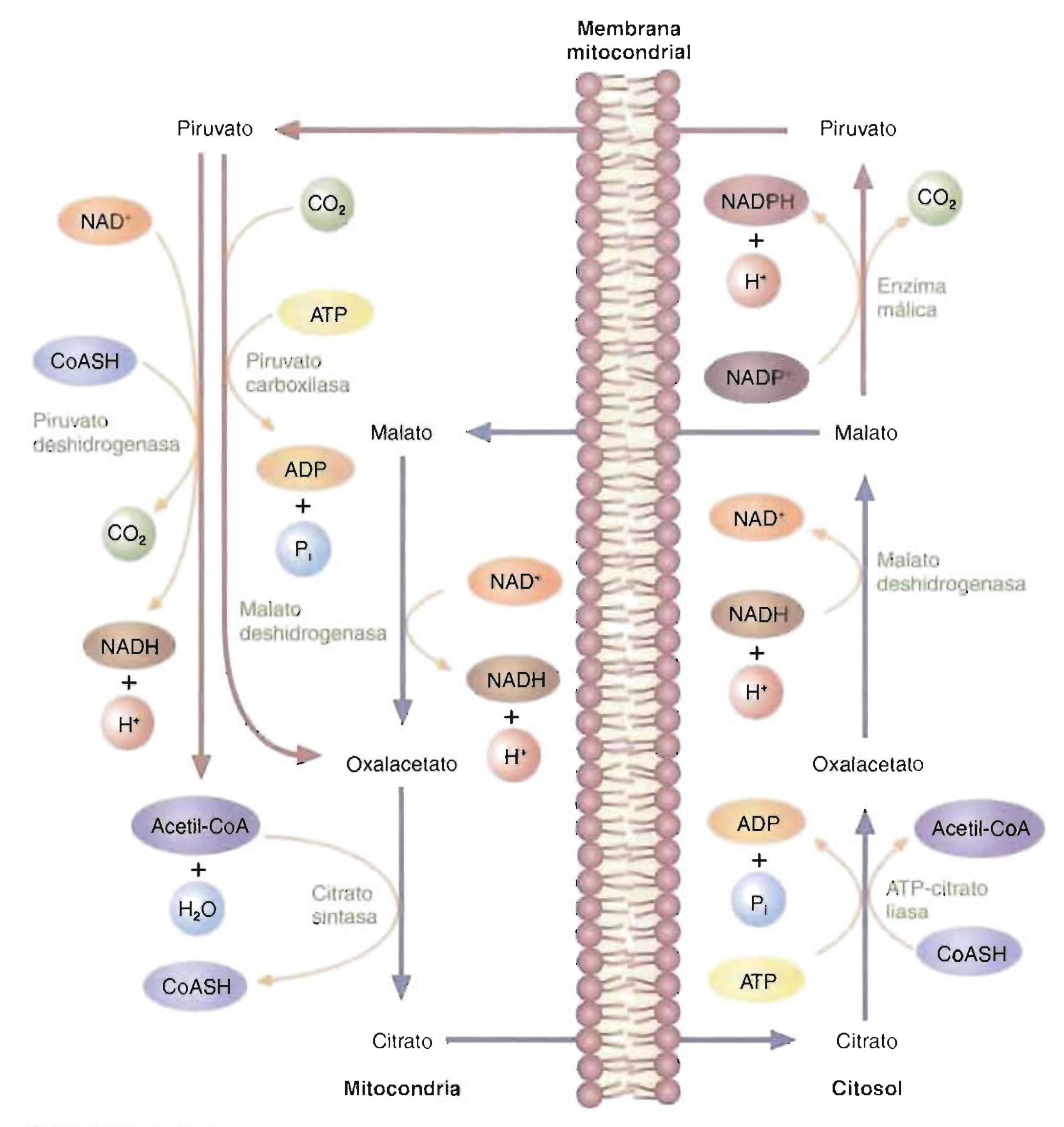


FIGURA 9-12

Metabolismo del citrato.

Cuando el citrato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, se mueve desde la matriz mitocondrial al citoplasma, se rompe para formar acetil-CoA y oxalacetato por la citrato liasa. La reacción de la citrato liasa está impulsada por la hidrólisis del ATP. La mayor parte del oxalacetato se reduce por la malato deshidrogenasa. El malato se oxida a continuación a piruvato y CO_2 por la enzima málica. El NADPH que se produce en esta reacción se utiliza en los procesos citoplásmicos de biosíntesis, como la síntesis de los ácidos grasos. El piruvato entra en las mitocondrias, donde puede convertirse en oxalacetato o acetil-CoA. El malato también puede entrar de nuevo en las mitocondrias, donde se oxida de nuevo para formar oxalacetato.

debido a que la acetil-CoA no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. Una vez en el citoplasma, el citrato se fracciona por la citrato liasa. La acetil-CoA que se forma se utiliza en varios procesos de biosíntesis, como la síntesis de ácidos grasos. El oxalacetato se utiliza en las reacciones de biosíntesis o puede convertirse en malato. Éste puede volver a entrar en la mitocondria, donde vuele a convertirse en oxalacetato o se convierte en el citoplasma en piruvato por la enzima málica. El piruvato vuelve a entrar en la mitocondria. Además de ser un precursor de la acetil-CoA y del oxalacetato en el citoplasma, el citrato actúa también directamente para regular varios procesos citoplásmicos. El citrato es un activador alostérico de la

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 9.1. Cáncer y metabolismo energético

El cáncer consiste en un conjunto de enfermedades en las que las células dañadas genéticamente proliferan de forma autónoma. Estas células no pueden responder a los mecanismos reguladores normales que aseguran la cooperación intercelular que se requiere en los organismos multicelulares. Como consecuencia, continúan proliferando, robando de esta manera a las células normales cercanas los nutrientes e invadiendo en última instancia el tejido sano de los alrededores.

Se ha reconocido desde hace tiempo que los tumores cancerosos poseen un metabolismo energético anómalo. Por ejemplo, en los años 1930, Otto Warburg (1883-1970), el bioquímico alemán que diseñó los primeros métodos fiables para estudiar el metabolismo energético en los tejidos animales, observó que las células tumorales convierten la glucosa en ácido láctico a una velocidad anómalamente elevada con independencia de su suministro de oxígeno. Como se ha descrito previamente, en presencia de oxígeno el flujo de glucosa a través de la glucólisis es considerablemente inferior en las células aerobias normales que cuando está ausente el oxígeno. Hasta los años 1980 se suponía que los valores de pH intracelular y extracelular de las células tumorales eran ácidos. En esa época los avances tecnológicos que permitieron la medida no invasora de los valores de pH de los tumores descubrieron que las células malignas regulan su pH interno de forma que es neutro o ligeramente alcalino. Actualmente se sabe que ambas circunstancias (el pH externo bajo y los valores relativamente elevados de los valores internos de pH) benefician a las células tumorales. Un pH externo bajo estimula las *metástasis* (la migración a otros tejidos de las células malignas que se dividen rápidamente), y un pH interno elevado estimula los procesos implicados en el crecimiento y la división celular.

Durante muchos años los oncólogos moleculares (bioquímicos y biólogos moleculares que investigan las bases moleculares del cáncer) han intentado descubrir cómo contrarrestan las células malignas la regulación del metabolismo energético. Aunque todavía no se conocen los mecanismos precisos, se cree que los cambios del metabolismo energético se producen por alteraciones de la expresión genética (Capítulo 18), muchas de las cuales están estimuladas por la *hipoxia* (concentraciones de oxígeno inadecuadas) crónica. Las investigaciones más recientes han descubierto que en el tejido normal la hipoxia desencadena cambios de la expresión de los genes que producen una cascada de respuestas fisiológicas que permiten sobrevivir a las células durante condiciones temporales adversas. Muchos de estos cambios de la expresión de los genes son consecuencia de la activación del factor de transcripción factor 1 inducible por la hipoxia (HIF-1). (Los **factores de transcripción** son proteínas que regulan o inician la síntesis de RNA al unirse a secuencias específicas de DNA denominadas elementos de respuesta.) Destacando entre los genes cuya expresión está sobrerregulada por el HIF-1 se encuentran los que codifican las proteínas transportadoras de glucosa, la mayoría de las enzimas glucolíticas, y la LDH. En las primeras fases de la **carcinogénesis** (el proceso mediante el cual las células se hacen inestables genéticamente y finalmente cancerosas) las células profundas del tumor quedan privadas de oxígeno y nutrientes. Aquellas células que pueden adaptarse a estas condiciones hostiles tienen una ventaja de supervivencia sobre las que no pueden hacerlo. Consecuentemente, son características comunes de los tumores un aumento del flujo glucolítico y la sobreproducción resultante de lactato. Al producirse la carcinogénesis y formar el tumor su propio aporte sanguíneo (un proceso denominado *angiogénesis*) induciendo la síntesis de proteínas como el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), sus células finalmente reciben las cantidades adecuadas de oxígeno y nutrientes. Sin embargo, el ritmo glucolítico de estas células permanece elevado. En este fenómeno, que se denomina **glucólisis aerobia**, las células tumorales obtienen la energía para el mantenimiento de sus rápidas divisiones celulares a partir de un metabolismo mixto con un ritmo elevado de glucólisis y algo de fosforilación oxidativa. En muchas células tumorales, la producción de lactato es tan elevada que se produce poca acetil-CoA. En estas circunstancias, el aminoácido glutamina frecuentemente es el sustrato oxidable principal para un ciclo del ácido cítrico anómalo e incompleto. (La glutamina se convierte en glutamato, el precursor del α-cetoglutarato. La oxidación del α-cetoglutarato sólo produce dos moléculas de NADH, en lugar de las tres moléculas normales.) En otras palabras, la sobrerregulación transitoria normal de los genes inducibles por la hipoxia y los consumos elevados de glucosa que lo acompañan son ahora características permanentes del tumor que crece.

primera reacción de la síntesis de los ácidos grasos. Además, el metabolismo del citrato proporciona parte del NADPH que se utiliza para la síntesis de ácidos grasos. Finalmente, debido a que el citrato es un inhibidor de la PFK-1, inhibe la glucólisis.

La actividad de la α-cetoglutarato deshidrogenasa está estrictamente regulada dado la importancia del α-cetoglutarato en varios procesos metabólicos (p. ej., metabolismo de los aminoácidos). Cuando los almacenes celulares de energía son bajos, la α-cetoglutarato deshidrogenasa se activa y se retiene el α-cetoglutarato dentro del ciclo a expensas de los procesos de biosíntesis. Al aumentar el suministro celular de NADH, la enzima se inhibe, y las moléculas de α-cetoglutarato quedan disponibles para las reacciones de biosíntesis.

Dos enzimas ajenas al ciclo del ácido cítrico afectan profundamente su regulación. Las actividades relativas de la piruvato deshidrogenasa y de la piruvato carboxilasa determinan el grado de utilización del piruvato para generar energía y precursores de biosíntesis. Por ejemplo, si una célula está utilizando un intermediario del ciclo como el α-cetoglutarato en la biosíntesis, la concentración de oxalacetato cae y se acumula acetil-CoA. Dado que la acetil-CoA es un activador de la piruvato carboxilasa (y un inhibidor de la piruvato deshidrogenasa), se produce más oxalacetato a partir de piruvato, rellenando el ciclo.

CONCEPTOS CLAVE 9.5

El ciclo del ácido cítrico está regulado estrechamente, asegurando así que se satisfacen las necesidades energéticas y de biosíntesis de la célula. Los efectores alostéricos y la disponibilidad del sustrato regulan principalmente las enzimas citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa, piruvato deshidrogenasa y piruvato carboxilasa.

PREGUNTA 9.7

El fluoroacetato, F—CH_2—COO^-, es una sustancia tóxica que se encuentra en algunas plantas que crecen en Australia y África del sur. Los animales que ingieren estas plantas mueren. Sin embargo, la investigación señala que el fluoroacetato no es venenoso por sí mismo. Una vez que se ha consumido, el fluoroacetato se transforma en un metabolito tóxico, el fluorocitrato. En las células afectadas, el citrato se acumula. ¿Puede sugerir cómo se transforma el fluoroaceato en fluorocitrato? ¿Por qué mueren los animales y no se afectan las plantas por el fluoroacetato?

Ciclo del glioxilato

Los vegetales y algunos hongos, algas, protozoos y bacterias pueden crecer utilizando compuestos con dos carbonos. (Las moléculas como el etanol, el acetato y la acetil-CoA, que derivan de los ácidos grasos, son los sustratos más comunes.) El conjunto de reacciones responsables de esta capacidad, que se denomina **ciclo del glioxilato**, es una versión modificada del ciclo del ácido cítrico. En los vegetales, el ciclo del glioxilato tiene lugar en orgánulos denominados glioxisomas (pág. 50). Por ejemplo, en ausencia de la fotosíntesis, el crecimiento de las semillas germinadas se mantiene por la conversión de las reservas grasas (triacilgliceroles) en hidratos de carbono. En otros organismos eucariotas y en las bacterias, las enzimas del glioxilato se encuentran en el citoplasma.



El ciclo del glioxilato (Fig. 9-13) consta de cinco reacciones. Las dos primeras reacciones (la síntesis de citrato e isocitrato) son familiares, debido a que también tienen lugar en el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, la formación de citrato a

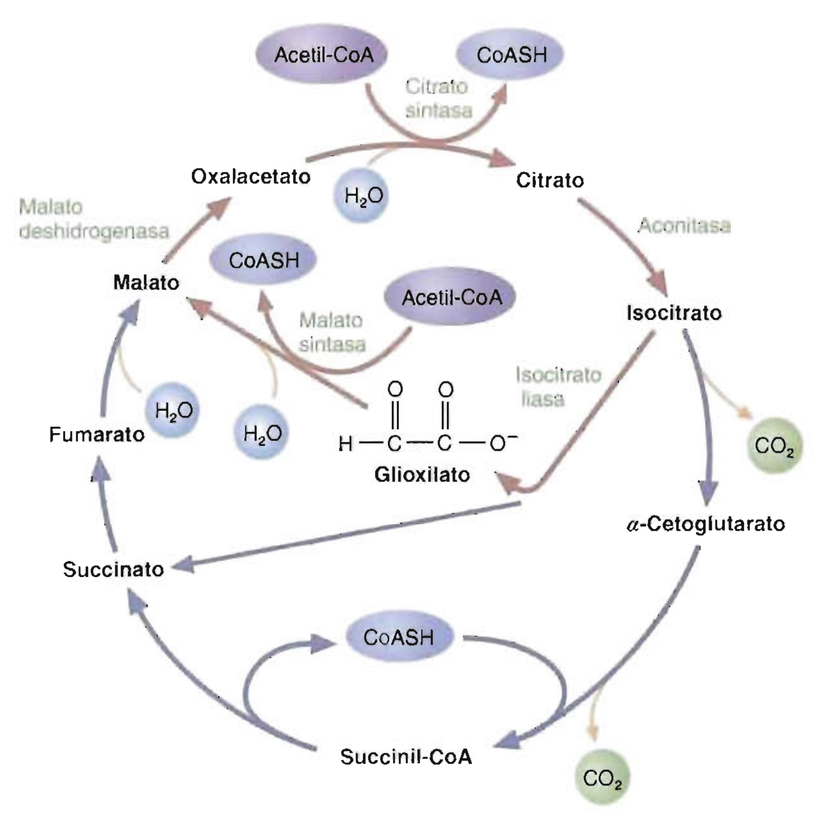


FIGURA 9-13

Ciclo del glioxilato.

Utilizando algunas de las enzimas del ciclo del ácido cítrico, el ciclo del glioxilato convierte dos moléculas de acetil-CoA en una molécula de oxalacetato. Se evitan ambas reacciones de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico.

partir de oxalacetato y acetil-CoA y la isomerización de citrato para formar isocitrato están catalizadas por isoenzimas específicas de los glioxisomas. Las dos reacciones siguientes son únicas del ciclo del glioxilato. El isocitrato de desdobla en dos moléculas (succinato y glioxilato) por la isocitrato liasa. (Esta reacción es una escisión aldólica.) El succinato, una molécula de cuatro carbonos, finalmente se convierte en malato por enzimas mitocondriales (Fig. 9-14). La molécula de dos carbonos glioxilato reacciona con una segunda molécula de acetil-CoA para formar malato en una reacción catalizada por la malato sintasa. El ciclo se completa al convertirse el malato en oxalacetato por la malato deshidrogenasa.

El ciclo del glioxilato permite la síntesis neta de moléculas más grandes a partir de moléculas de dos carbonos por la siguiente razón. Se evitan las reacciones de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico, en las que se pierden dos moléculas de CO_2. Utilizando dos moléculas de acetil-CoA, el ciclo del glioxilato produce una molécula de succinato y otra de oxalacetato. El succinato se utiliza para la síntesis de moléculas de importancia metabólica, de las que la más importante es la glucosa. (En los organismos como los animales, que no tienen isocitrato liasa ni malato sintasa, la gluconeogénesis siempre implica moléculas con al menos tres átomos de carbono. En estos organismos no hay síntesis neta de glucosa a partir de los ácidos grasos.) El oxalacetato producto del ciclo se utiliza para mantener el ciclo del glioxilato.

CONCEPTOS CLAVE 9.6

Los organismos que poseen el ciclo del glioxilato pueden utilizar moléculas de dos carbonos para mantener el crecimiento. En los vegetales el ciclo del glioxilato tiene lugar en orgánulos denominados glioxisomas.

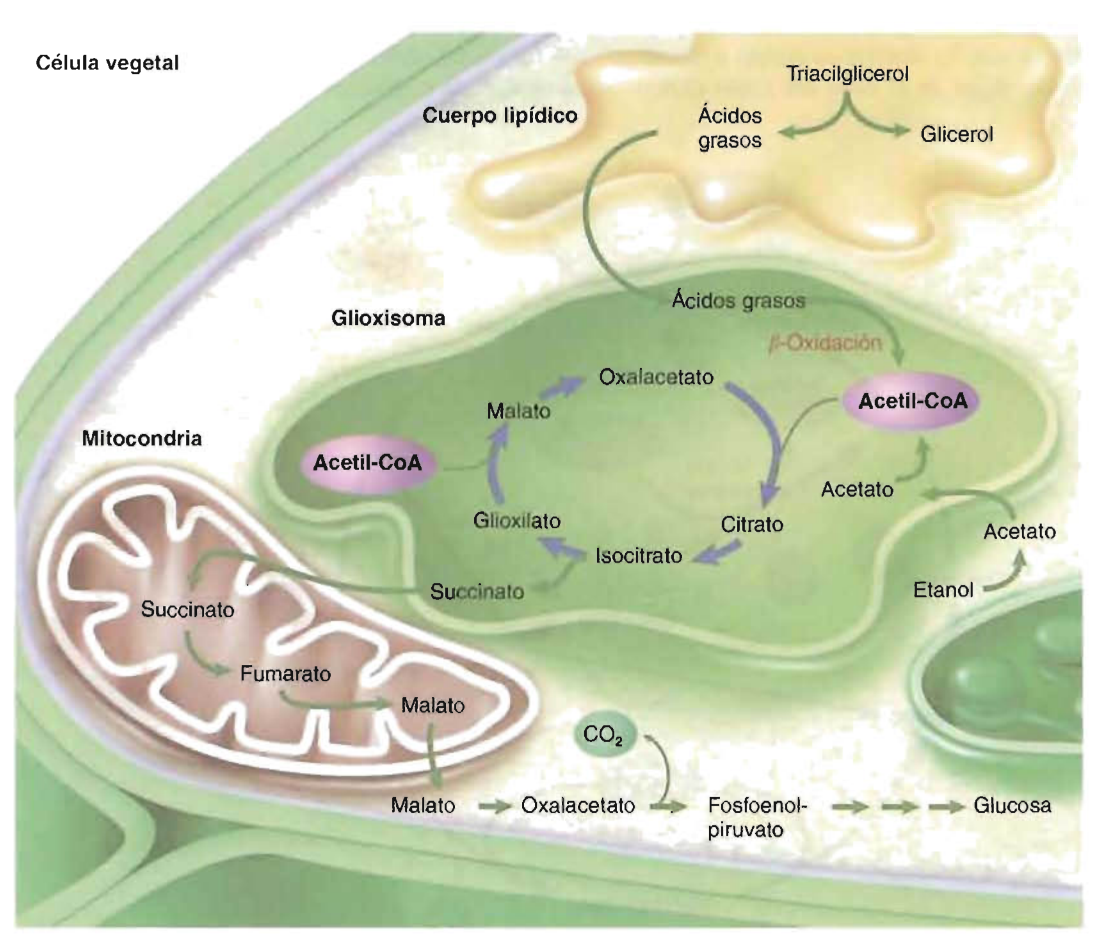


FIGURA 9-14

Papel del ciclo del glioxilato en la gluconeogénesis.

La acetil-CoA que se utiliza en el ciclo del glioxilato procede de la degradación de los ácidos grasos (β-oxidación, véase el Capítulo 12). En los organismos con las enzimas adecuadas, puede formarse glucosa a partir de compuestos de dos carbonos como el etanol y el acetato. En los vegetales, las reacciones están localizadas dentro de cuerpos lipídicos, los glioxisomas, las mitocondrias y el citoplasma.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 9.2. Hans Krebs y el ciclo del ácido cítrico

Hans Krebs (1900-1981), un bioquímico británico de origen alemán, es conocido por su descubrimiento del ciclo del ácido cítrico, probablemente una de las contribuciones más importantes de la bioquímica en el siglo XX. Los esfuerzos de Krebs para elucidar los detalles del metabolismo oxidativo (los medios por los que los nutrientes se convierten en energía) fueron posibles gracias a muchos factores. Como en la mayoría de la investigación bioquímica, Krebs se benefició de descubrimientos de otros muchos científicos que proporcionaron información sobre los sustratos (p. ej., succinato, fumarato y malato) y las reacciones (p. ej., deshidrogenaciones, hidrataciones y deshidrataciones) que se sabía que intervenían en la respiración celular. Los más destacados de estos científicos fueron Otto Warburg (1883-1970) y Albert Szent-Györgyi (1893-1986). Krebs tuvo también la fortuna de emplear los primeros años de su carrera trabajando en el laboratorio de Otto Warburg en el Kaiser Wilhelm Institut de Berlín. Allí aprendió Krebs técnicas puestas a punto por Warburg, que posteriormente demostraron ser cruciales en sus propios proyectos de investigación. Entre éstas estaban la *manometría* (un método para determinar la concentración de una sustancia específica utilizando un instrumento que mide la captura de O_2 o la liberación de CO_2), la *espectrofotometría* (una técnica que mide la concentración de una sustancia determinando la proporción de la luz incidente que absorbe el sustrato a una determinada longitud de onda, véase la pág. 424 para un análisis de la luz), y la preparación de cortes experimentales de tejidos. Durante varios años, empezando en 1933, Krebs, ayudado por los esfuerzos prodigiosos de su estudiante de investigación William A. Johnson, lentamente juntó los elementos de la ruta oxidativa que él finalmente dedujo era un ciclo. Sólo unos años después de que Krebs y Johnson comunicaran su trabajo en 1937 se reconoció al ciclo como el medio principal por el que los hidratos de carbono se oxidan en las células. Además de la naturaleza controvertida de su trabajo (p. ej., Szent-Gyorgyi creía que las moléculas como el succinato y el fumarato actuaban como lanzaderas de los átomos de hidrógeno hacia el O_2), uno de los problemas principales que retrasaron el reconocimiento fue la identidad del «acetato activo», el intermediario en la conversión del piruvato en citrato. Krebs observó que cuando se añadía piruvato a cortes de tejidos, se producían grandes cantidades de citrato. Sin embargo, la adición de acetato, el producto, esperado de la reacción, no producía ningún efecto. Mucho después, Fritz Lipmann y Nathan Kaplan descubrieron la acetil-CoA (1945) y Severo Ochoa y Feodor Lynen establecieron que la acetil-CoA reacciona con el oxalacetato para formar citrato (1951). Por estos esfuerzos Krebs recibió el título de caballero y el Premio Nobel de fisiología y medicina en 1953 (compartido con Fritz Lipmann). Otras contribuciones importantes de Hans Krebs fueron el descubrimiento del ciclo de la urea y el ciclo del glioxilato. El *ciclo de la urea* (Sección 15.1), el mecanismo por el que algunos animales convierten el nitrógeno tóxico de desecho en urea (un producto hidrosoluble que puede eliminarse) lo descubrieron en 1932 Krebs y Kurt Heinsleit, un estudiante de medicina. En 1957, en una publicación conjunta de Hans Kornberg y Hans Krebs comunicaron el descubrimiento del *ciclo del glioxilato* (véase la pág. 293).

Muchos años después de su descubrimiento del ciclo del ácido cítrico, al decirle que reflexionara sobre su éxito cuando otros científicos brillantes habían fracasado en la elucidación del mecanismo, Krebs replicó en parte,

> «Mi enfoque fue el de un biólogo tratando de elucidar los sucesos químicos de las células. Yo estaba acostumbrado a relacionar las reacciones químicas en la materia viva con las actividades de la célula como un todo. Juntando las piezas de información como en un puzzle e intentando encontrar los enlaces perdidos, traté de llegar a una imagen coherente de los procesos metabólicos. De esta forma, mi mente estaba preparada para utilizar cualquier pieza de información que pudiera tener un apoyo en las fases intermediarias de la combustión de los alimentos. Esta diferencia de enfoque fue, creo yo, un factor importante para determinar quién tropezó primero con el concepto del ciclo del ácido tricarboxílico».

* Krebs, H.A., The History of the Tricarboxylic Acid Cycle, *Perspect. Biol. Med.*, 14:166-167, 1970.

RESUMEN

1. Los organismos aerobios tienen una ventaja enorme sobre los organismos anaerobios, esto es, una mayor capacidad para obtener energía a partir de moléculas orgánicas. Para utilizar el oxígeno en la generación de energía se requieren las rutas bioquímicas siguientes: ciclo del ácido cítrico, ruta de transporte electrónico y fosforilación oxidativa.
2. La mayoría de las reacciones que capturan energía son reacciones redox. En estas reacciones, los electrones se transfieren entre un donador electrónico (reductor) y un aceptor electrónico (oxidante). En algunas reacciones sólo se transfieren los electrones. En otras, se transfieren electrones y protones. La tendencia de un par redox conjugado para perder un electrón se denomina potencial redox. Los electrones fluyen espontáneamente desde los pares redox electronegativos a aquellos que son más positivos. En las reacciones redox favorables $\Delta E^{0\prime}$ es positiva y $\Delta G^{0\prime}$ es negativa.
3. El ciclo del ácido cítrico es un conjunto de reacciones bioquímicas que oxidan totalmente los sustratos orgánicos, como la glucosa y los ácidos grasos, para formar CO_2, H_2O y las coenzimas reducidas NADH y $FADH_2$. El piruvato, el producto de la ruta glucolítica, se convierte en acetil-CoA, el sustrato del ciclo del ácido cítrico.
4. Además de su función en la generación de energía, el ciclo del ácido cítrico desempeña también funciones importantes en los procesos de biosíntesis, como la gluconeogénesis, la síntesis de aminoácidos y la síntesis de porfirinas.
5. El ciclo del glioxilato, que se produce en los vegetales y algunos hongos, algas, protozoos y bacterias, es una versión modificada del ciclo del ácido cítrico en el que las moléculas de dos carbonos, como el acetato, se convierten en precursores de la glucosa.

LECTURAS RECOMENDADAS

Gibble, G. W., Fluoroacetate Toxicity, *J. Chem. Ed.*, 50:460-462, 1973.

Graham, T. E., and Gibala, M. J., Anaplerosis of the Tricarboxylic Acid Cycle in Human Skeletal Muscle during Exercise: Magnitude, Sources, and Potential Physiological Significance, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 441:271-286, 1998.

Huynen, M. A., Dandekar, T., and Bork, P., Variation and Evolution of the Citric Acid Cycle: A Genomic Perspective, *Trends Microbiol.*, 7:281-291, 1999.

Krebs, H. A., The History of The Tricarboxylic Cycle, *Perspect. Biol. Med.*, 14:154-170, 1970.

Kornberg, H. L., Tricarboxylic Acid Cycles, *Bioessays*, 7:236-238, 1987.

Kornberg, H., Krebs and His Trinity of Cycles, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 1(3): 225-227, 2000.

Masters, C., and Crane, D., *The Peroxisome: A Vital Organelle*, Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

Scheffler, I. E., *Mitochondria*, Wiley-Liss, New York, 1999.

PALABRAS CLAVE

aerobio estricto, *273*
anaerobio estricto, *273*
anaerobio facultativo, *273*
anaerobio tolerante al aire, *273*
anaplerótico, *289*
carcinogénesis, *292*
ciclo del glioxilato, *293*
coenzima A, *279*
factor de transcripción, *292*
glucólisis aerobia, *292*
par redox conjugado, *275*
potencial de reducción, *275*
potencial redox, *275*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

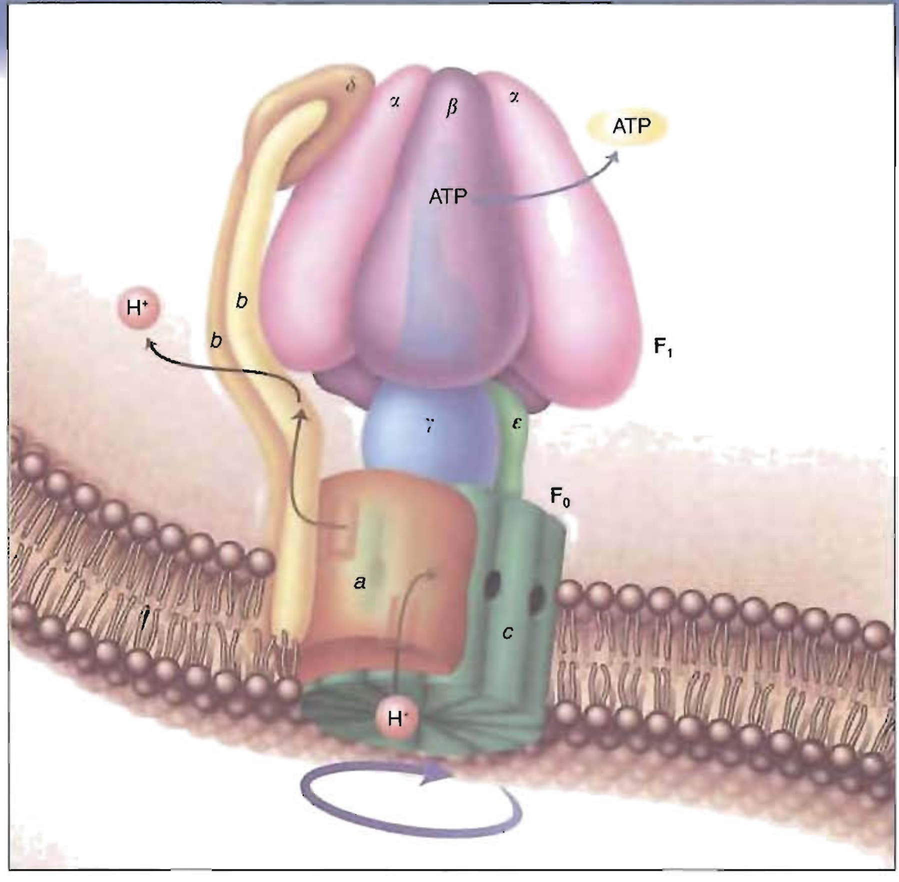
1. Defina los términos siguientes:
   a. anaerobios
   b. reacciones anapleróticas
   c. glioxisomas
   d. potencial de reducción
   e. par redox conjugado
   f. coenzima A
   g. anfibólica
   h. aciduria láctica
   i. carcinogénesis
   j. glucólisis aerobia
2. Describa en términos generales cómo afectó la aparición del oxígeno molecular en la atmósfera de la Tierra, hace alrededor de 3000 millones de años la historia de los seres vivos.
3. Describa los estilos de vida de los organismos siguientes:
   a. anaerobios estrictos
   b. anaerobios que toleran el aire
   c. anaerobios facultativos
   d. aerobios estrictos
4. Un corredor necesita una cantidad de energía tremenda durante una carrera. Explique cómo afecta el uso del ATP por los músculos que se contraen al ciclo del ácido cítrico.
5. Describa dos funciones importantes del ciclo del ácido cítrico.
6. La acetil-CoA se forma en las mitocondrias y se utiliza en el citoplasma para sintetizar los ácidos grasos. Sin embargo, la acetil-CoA no puede atravesar la membrana mitocondrial. ¿Cómo se resuelve este problema?
7. Describa el ciclo del glioxilato. ¿Cómo se emplea para sintetizar moléculas complejas a partir de moléculas de dos carbonos?
8. ¿Cuáles de las siguientes condiciones indican un estado celular de baja energía? ¿Qué reacciones bioquímicas afecta cada condición?
   a. un cociente NADH/NAD$^+$ elevado
   b. un cociente ATP/ADP elevado
   c. una concentración elevada de acetil-CoA
   d. una concentración baja de citrato
   e. una concentración elevada de succinil-CoA
9. Se muestran las estructuras del mononucleótido de flavina (FMN) y su forma reducida FMNH$_2$. Identifique cada molécula.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. ¿Cuál es el significado de las reacciones de fosforilación a nivel del sustrato? ¿Cuál de las reacciones del ciclo del ácido cítrico implica una fosforilación a nivel del sustrato? Nombre otro ejemplo de ruta bioquímica que le sea familiar.
2. Ha consumido una pieza de fruta. Siga los átomos de carbono de la fructosa de la fruta a través de las rutas bioquímicas entre su captura por los tejidos y su conversión en CO_2.
3. Bosqueje la biosíntesis del aminoácido ácido glutámico a partir del piruvato.
4. Bosqueje la degradación del glutamato para formar CO_2.
5. Determine la energía libre estándar ($\Delta G^{0\prime}$) para las siguientes reacciones:
   a. $NADH + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$
   b. Citocromo c (Fe^{2+}) + $\frac{1}{2} O_2 \longrightarrow$ citocromo c (Fe^{3+}) + H_2O

CAPÍTULO DIEZ

Metabolismo aerobio II: transporte electrónico y fosforilación oxidativa



La ATP sintasa. La ATP sintasa es una máquina molecular giratoria que sintetiza ATP. Este complejo multiproteico está formado por dos dominios principales: el componente F_0, que va de un lado a otro de la membrana, y el componente F_1, que sintetiza ATP. El flujo de protones a través de F_0 que hace posible un gradiente creado por el transporte electrónico, genera una torsión que fuerza el giro del eje (subunidad γ). La fuerza de giro dentro de F_1 desencadena posteriormente los cambios conformacionales que producen la síntesis de ATP.

SUMARIO

La utilización de oxígeno por los organismos aerobios proporciona ventajas enormes en comparación con una forma de vida anaerobia, debido a que la oxidación aerobia de los nutrientes como la glucosa y los ácidos grasos proporciona una cantidad de energía sustancialmente mayor que la fermentación. El oxígeno facilita también las reacciones como las hidroxilaciones. Sin embargo, como el oxígeno es una molécula muy reactiva, por su uso se paga un precio inevitable: se forman metabolitos tóxicos. Los esfuerzos investigadores han descubierto que las células aerobias poseen un conjunto de mecanismos que protegen frente a los efectos dañinos del oxígeno. Numerosas enzimas y moléculas antioxidantes normalmente impiden el daño celular oxidativo con precisión extraordinaria. Sin embargo, a pesar de su nivel de protección elevado, los metabolitos del oxígeno a veces producen a las células lesiones graves. Las condiciones anómalas agresivas pueden imponerse a los mecanismos antioxidantes de un organismo. Los trastornos como el cáncer, las enfermedades cardíacas y la lesión nerviosa tras los daños de la médula espinal están producidos, en parte, por metabolitos del oxígeno.

La complejidad de las modernas células aerobias, especialmente aquellas de los organismos multicelulares, se consigue mediante miles de pequeñas máquinas moleculares complejas. Como se ha descrito anteriormente (véase la pág. 33), las máquinas moleculares son proteínas que utilizan la energía del enlace químico de los nucleótidos para impulsar la operación coordinada de sus partes componentes. La estructura de cada máquina, ya sea una bomba, una enzima o un transductor de señales, está diseñada de forma que pueda unir ATP (en algunos casos GTP) con una orientación específica. Cuando se hidroliza el enlace fosfoanhídrido terminal del nucleótido, la repulsión resultante que se produce entre los grupos fosfato adyacentes se utiliza para realizar el trabajo. De forma característica, la energía liberada por la hidrólisis del nucleótido inicia un conjunto ordenado de cambios de forma en la máquina proteica que culmina con la realización de su tarea biológica. En muchos casos, el cambio de forma se produce cuando la hidrólisis del nucleótido da lugar a la unión covalente de fosfato a un residuo de aminoácido específico en la máquina proteica. En realidad, la función proteica suele controlarse (es decir, activarse o desactivarse) mediante la fosforilación reversible de residuos de aminoácido específicos. Aunque todas las células poseen máquinas moleculares, las células eucariotas aerobias poseen, con gran diferencia, la mayor variedad. La estructura y el funcionamiento complejos de estas células se mantienen gracias a las cantidades extraordinariamente elevadas de ATP que pueden generar. Esta capacidad se hace posible por su habilidad para utilizar el O_2 como aceptor terminal de los electrones que se extraen de las moléculas combustibles. Otros organismos pueden generar energía con rutas anaerobias de transporte de electrones (p. ej., los quimioorganótrofos anaerobios sintetizan ATP utilizando aceptores terminales de electrones como el azufre, el sulfato, el nitrato, el hierro férrico o el CO_2), pero son estructuras relativamente sencillas y sólo ocupan nichos ecológicos aislados. Por el contrario, los organismos aerobios se encuentran en abundancia por toda la biosfera.

La enorme diferencia de capacidad generadora de energía entre los organismos aerobios y anaerobios está directamente relacionada con las propiedades físicas y químicas del oxígeno. Éste posee varias propiedades que combinadas han hecho posible un mecanismo muy favorable de extracción de la energía de las moléculas orgánicas. La primera de ellas es que el oxígeno se encuentra en todas partes en la superficie de la Tierra. Recuerde que los anaerobios estrictos, aquellos organismos a los que envenena el oxígeno, se encuentran en lugares muy aislados (véase la pág. 273). Por el contrario, la mayoría de los demás aceptores de electrones son relativamente escasos. La segunda es que el oxígeno difunde fácilmente a través de las membranas celulares. Esto no ocurre con otros aceptores de electrones. Por ejemplo, las especies cargadas, como el sulfato y el nitrato, no difunden fácilmente a través de las membranas celulares. La última es que el oxígeno es muy reactivo, de forma que acepta fácilmente los electrones. Sin embargo, esta capacidad es responsable de otra propiedad del oxígeno, su tendencia a formar metabolitos muy destructores.

En el Capítulo 10 se describen los principios básicos de la fosforilación oxidativa, el mecanismo complejo mediante el cual las modernas células aerobias fabrican el ATP. La exposición comienza con una revisión del sistema de transporte electrónico en el que coenzimas reducidas ceden los electrones a la cadena de transporte electrónico (CTE). La CTE utiliza un conjunto de transportadores electrónicos en la membrana interna de las mitocondrias de los eucariotas y la membrana plasmática de los procariotas aerobios. A continuación se realiza una descripción de la quimioósmosis, el medio mediante el cual se captura y se utiliza para sintetizar ATP la energía que se obtiene del flujo electrónico. El Capítulo 10 finaliza con una consideración de la formación de los productos tóxicos del oxígeno y las estrategias que utilizan las células para protegerse.

10.1. TRANSPORTE ELECTRÓNICO

La cadena de transporte electrónico (CTE) mitocondrial, que también se denomina sistema de transporte electrónico, es un conjunto de transportadores electrónicos situados en la membrana interna, en orden creciente de afinidad electrónica, que

transfiere los electrones que proceden de las coenzimas reducidas hasta el oxígeno. (Existen otros sistema de transporte electrónico dentro de las células. En el Recuadro de Interés Especial 10.1 y en el Capítulo 13 se consideran varios ejemplos.) Durante esta transferencia se produce una disminución del potencial de oxidación-reducción ($E^{0\prime}$). Cuando el donador de electrones es el NADH y el oxígeno es el aceptor de electrones, la variación del potencial es +1.14 V (es decir, +0.82V – (–0.32V), véase el Cuadro 9-1). Este proceso, en el que se utiliza el oxígeno para generar energía a partir de las moléculas de alimento, suele denominarse **respiración aerobia**. La energía que se libera durante la transferencia electrónica está acoplada a varios procesos endergónicos, de los que el más importante es la síntesis de ATP. Otros procesos que impulsan el transporte electrónico bombean Ca^{2+} dentro de la matriz mitocondrial y generan calor en el tejido adiposo marrón (se describe en la pág. 319). Las coenzimas reducidas, que proceden de la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico y la oxidación de los ácidos grasos, son las principales fuentes de electrones.

Componentes del transporte electrónico

Los componentes de la CTE de los eucariotas se encuentran en la membrana mitocondrial interna (Fig. 10-1). La mayoría de los componentes están organizados en

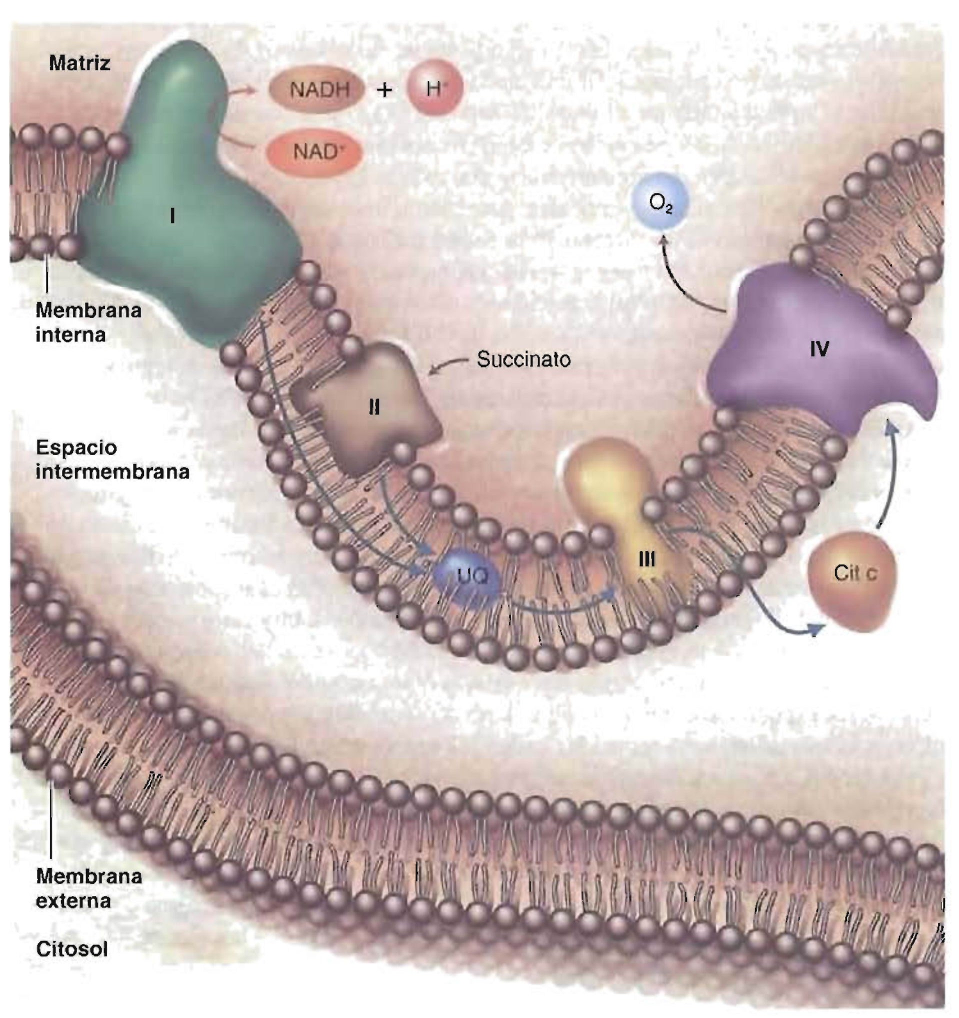


FIGURA 10-1

Cadena de transporte electrónico.

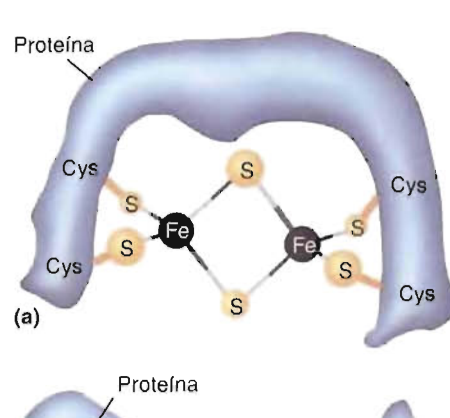
Los complejos I y II transfieren los electrones desde el NADH y el succinato, respectivamente, a la UQ. El complejo II transfiere los electrones desde la UQH_2 al citocromo c. El complejo IV transfiere los electrones desde el citocromo c al O_2. Las flechas representan el flujo de electrones.

cuatro complejos, cada uno de los cuales consta de varias proteínas y grupos prostéticos. Se describen brevemente cada complejo y las funciones de las otras dos moléculas, la coenzima Q (ubiquinona, UQ) y el citocromo c (cit c).

El complejo I, que también se denomina complejo NADH deshidrogenasa, cataliza la transferencia de electrones desde el NADH a la UQ. Las principales fuentes de NADH son varias reacciones del ciclo del ácido cítrico (véanse las págs. 284-287) y la oxidación de los ácidos grasos (Capítulo 12). Formado al menos por 25 polipéptidos diferentes, el complejo I es el componente proteico más grande de la membrana interna. Además de una molécula de FMN, el complejo contiene varios centros hierro-azufre (Fig. 10-2). Los centros hierro-azufre, que pueden constar de dos o cuatro átomos de hierro formando complejo con un número igual de iones sulfuro, hacen de intermediarios en las reacciones de transferencia de 1 electrón. Las proteínas que contienen centros hierro-azufre se denominan también *proteínas con hierro no hemo*. Aunque la estructura y la función del complejo I no se conocen aún muy bien, se cree que el NADH reduce al FMN a $FMNH_2$. A continuación se transfieren los electrones de uno en uno desde el $FMNH_2$ a un centro hierro-azufre. Tras la transferencia de un centro hierro-azufre a otro, los electrones finalmente se ceden a la UQ (Fig. 10-3).

En la Figura 10-4 se presenta la transferencia de electrones a través del complejo I. El transporte electrónico va acompañado por el movimiento de protones desde la matriz a través de la membrana interna al interior del espacio intermembrana. Se considerará el significado de este fenómeno en la síntesis del ATP.

El complejo succinato deshidrogenasa (complejo II) consta principalmente de la enzima del ciclo del ácido cítrico succinato deshidrogenasa y dos proteínas hierro-azufre. El complejo II participa en la transferencia de electrones desde el succinato a la UQ. El lugar de oxidación del succinato se encuentra en la proteína hierro-azufre



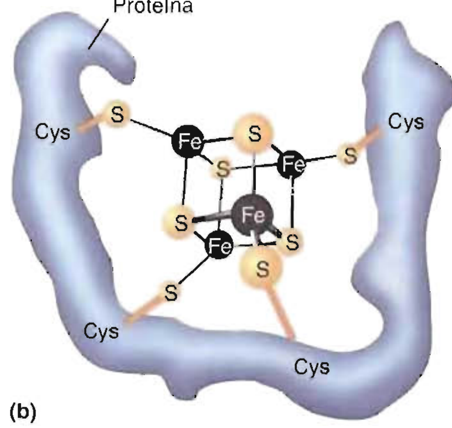


FIGURA 10-2

Centros hierro-azúfre (a) 2 Fe, 2 S y (b) 4 Fe, 4 S.

Los residuos de cisteína son parte de un polipéptido.

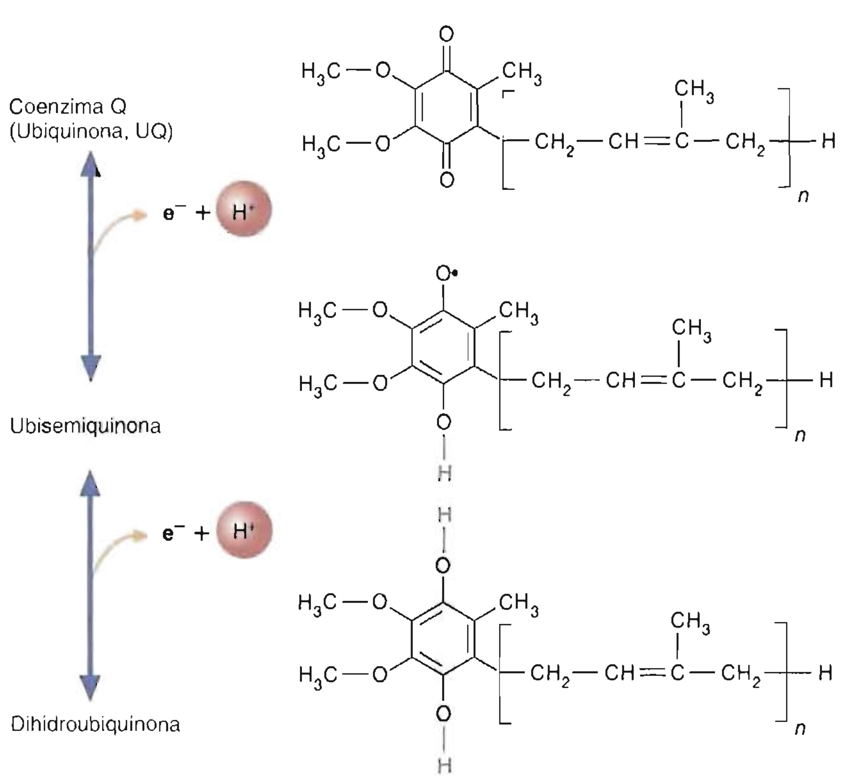


FIGURA 10-3

Estructura y estados de oxidación de la coenzima Q.

La longitud de la cadena lateral varía en las distintas especies. Por ejemplo, algunas bacterias tienen seis unidades isopreno, pero los mamíferos tienen diez.

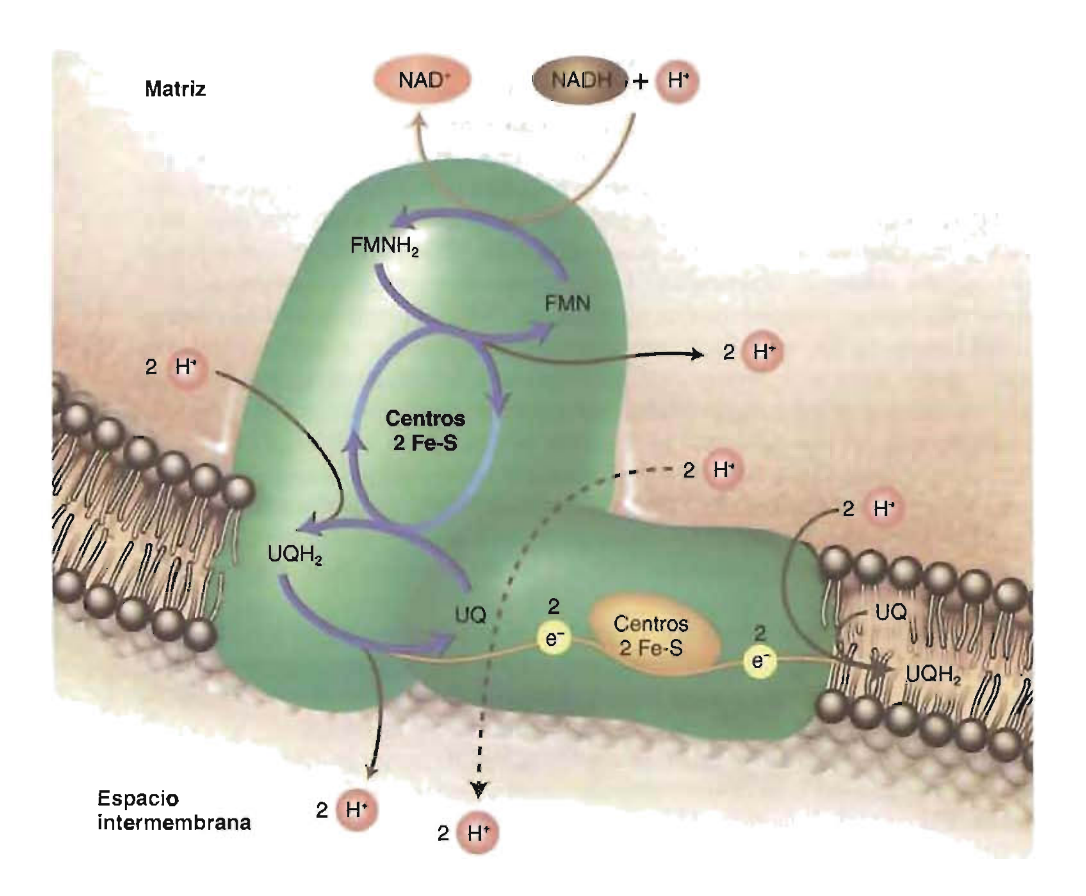


FIGURA 10-4

Transferencia de electrones a través del complejo I de la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

La transferencia de electrones comienza con la reducción del FMN por el NADH, un proceso que requiere 1 protón de la matriz. A continuación el $FMNH_2$ transfiere un par de electrones a seis u ocho centros Fe-S. (Debido a que no se conoce la ruta de los electrones, sólo se muestran cuatro centros Fe-S.) La transferencia secuencial de los 2 electrones al primer centro Fe-S libera en última instancia 4 protones al espacio intermembrana. No está claro el mecanismo por el que se transfieren estos protones a través de la membrana. Sin embargo, se cree que en la transferencia de dos de los protones participa una UQ interna. El segundo par de protones se transfiere al pasar secuencialmente los 2 electrones desde la UQ interna a través de una serie de centros Fe-S a una UQ externa.

más grande. Esta molécula contiene también un FAD unido covalentemente. También ceden electrones a la UQ otras flavoproteínas (Fig. 10-5). En algunos tipos celulares, la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, una enzima situada en la cara externa de la membrana mitocondrial interna, transfiere los electrones desde el NADH citoplásmico a la CTE (véase la pág. 316). La acil-CoA deshidrogenasa, la primera enzima de la oxidación de los ácidos grasos (Capítulo 12), transfiere los electrones a la UQ desde el lado de la matriz de la membrana interna.

El complejo III transfiere los electrones desde la coenzima Q reducida (UQH_2) al citocromo c. Al complejo III se le denomina complejo citocromo bc_1, ya que contiene dos citocromos de tipo b, un citocromo c_1 (cit c_1) y un centro hierro-azufre. Los citocromos (Fig. 10-6) son un conjunto de proteínas de transporte de electrones que contiene un grupo prostético hemo semejante a los de la hemoglobina y la mioglobina. Los electrones se transfieren de uno en uno y se reduce de forma reversible un átomo de hierro oxidado (Fe^{3+}) a Fe^{2+}. El movimiento de electrones desde la UQH_2 al citocromo c es un proceso complejo de varios pasos. Debido a que la UQ es liposoluble, difunde dentro de la membrana interna entre los donadores de electrones de los complejos I o II y el aceptor de electrones del complejo III. La transferen-

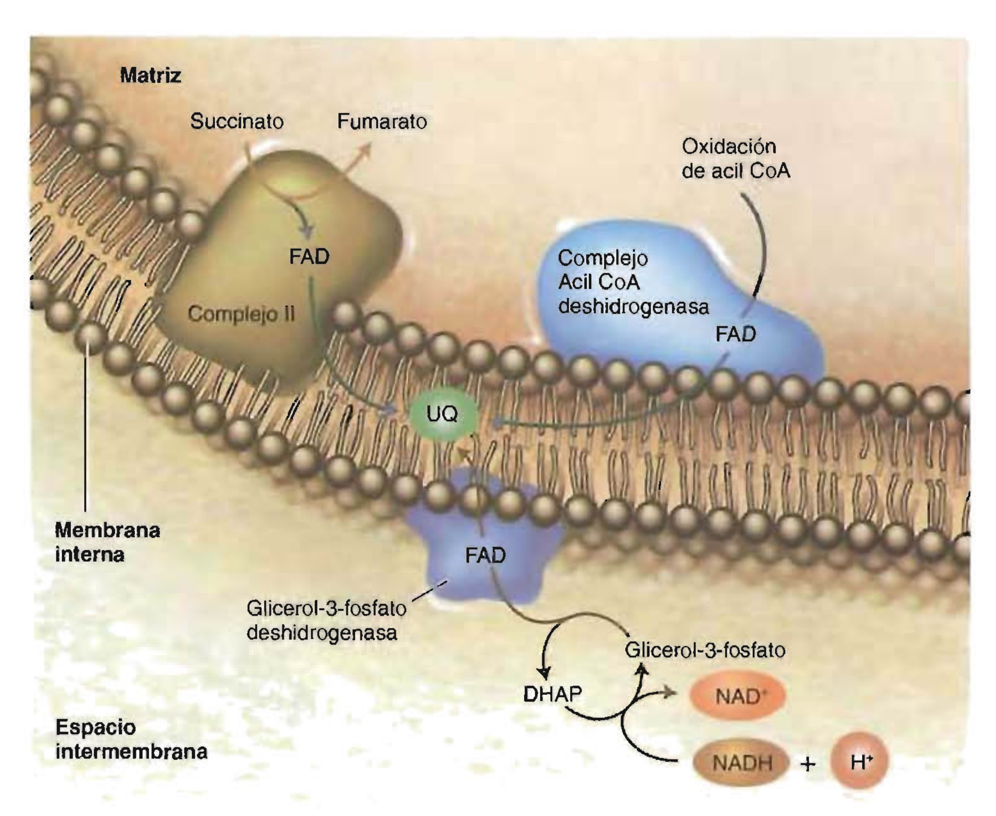


FIGURA 10-5

Ruta de los electrones desde el succinato, el glicerol-3-fosfato y los ácidos grasos hasta la UQ.

Los electrones desde el succinato se transfieren al FAD en el complejo II, a varios centros Fe-S, y luego a la UQ. Los electrones del NADH citoplásmico se transfieren a la UQ a través de una ruta con participación del glicerol-3-fosfato y la flavoproteína glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (véase la pág. 316). Los ácidos grasos se oxidan como derivados de la coenzima A. La acil-CoA deshidrogenasa, una de las enzimas de la oxidación de los ácidos grasos, transfiere 2 electrones al FAD. Luego se ceden a la UQ.

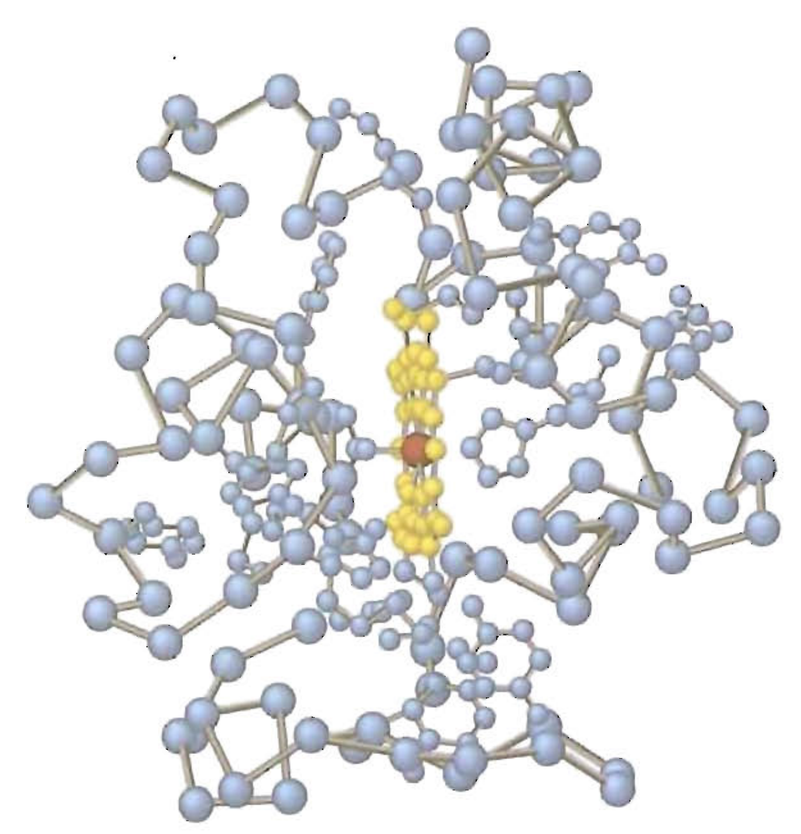


FIGURA 10-6

Estructura del citocromo c.

El citocromo c es un ejemplo de citocromo, una clase de proteínas pequeñas, cada una de las cuales posee un grupo prostético hemo. Durante el proceso de transporte electrónico, el hierro del hemo se oxida y se reduce alternativamente.

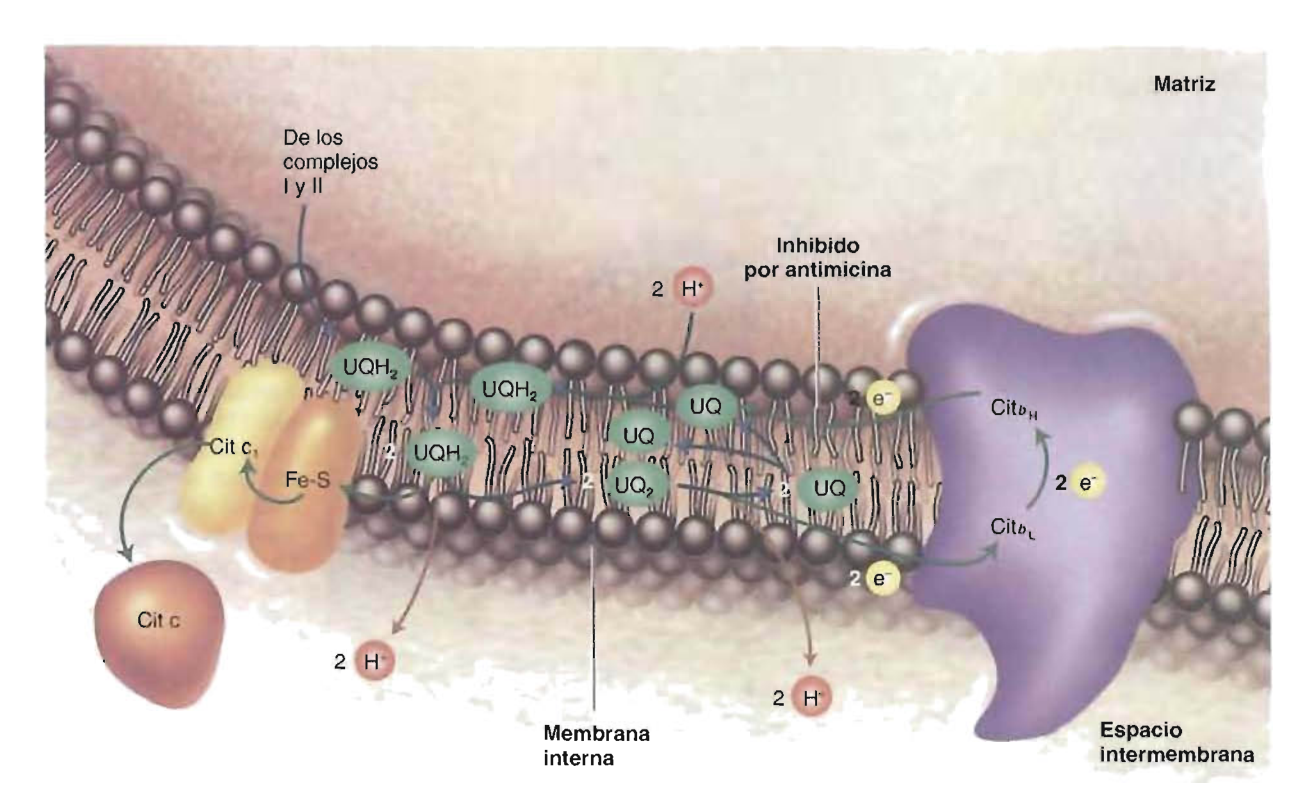


FIGURA 10-7

Transporte electrónico a través del complejo III.

Las flechas verdes o azules representan el flujo de electrones. Las flechas azules representan la ruta de la UQ en sus diversos estados de oxidación (ciclo Q) y de protones. La UQH_2 se oxida a UQ en dos pasos en un lugar enzimático junto al espacio intermembrana. El primer electrón se transfiere a la proteína Fe-S. El segundo electrón se transfiere al cit b. (Experimentan esta reacción dos moléculas de UQH_2.) Una de las dos moléculas de UQ producidas difunde hacia el lugar del lado de la matriz, donde se reduce para formar UQH_2. (La transferencia de electrones desde los dos citocromos b está inhibida por la antimicina.) Una vez formada, la UQH_2 difunde de regreso al lugar de oxidación, donde se une al conjunto de UQH_2 que viene de los complejos I y II. Los electrones transferidos desde la UQH_2 al centro Fe-S reducen a continuación al cit c. En el lado citoplásmico de la membrana interna se liberan cuatro protones.

cia de electrones comienza con la oxidación de la UQH_2 por la proteína hierro-azufre del complejo III, que genera la ubisemiquinona (UQH•). Posteriormente, la proteína hierro-azufre reducida transfiere un electrón al cit c_1, el cual lo transfiere luego al cit c. En la Figura 10-7 se dan más detalles.

La citocromo oxidasa (complejo IV) es un complejo proteico que cataliza la reducción de cuatro electrones del O_2 para formar H_2O. El complejo que atraviesa la membrana (Fig. 10-8) en los mamíferos puede contener entre seis y trece subunidades, dependiendo de las especies. Puede contener también dos átomos de cobre, además de los átomos de hierro del hemo de los citocromos a y a_3. (Los átomos de cobre se alternan entre los estados de oxidación +1 y +2, Cu^{1+} y Cu^{2+}.) El átomo de hierro del cit a_3 está íntimamente asociado con un átomo de cobre denominado Cu_B. El otro átomo de cobre (Cu_A) se encuentra a corta distancia del hemo del cit a. El citocromo c, una proteína que está unida débilmente a la membrana interna sobre su superficie externa, transfiere los electrones de uno en uno al cit a y al Cu_A. Los electrones se ceden a continuación al cit a_3 y al Cu_B, lo que se produce en el lado de la matriz (interno) de la membrana. Esta lanzadera de electrones permite que se cedan a la molécula de dioxígeno unida al cit a_3-Fe^{2+}. Se forman dos moléculas de agua que abandonan el lugar

$$O_2 + 4\,H^+ + 4e^- \longrightarrow 2\,H_2O$$

Durante cada reacción redox secuencial de la CTE, un electrón pierde energía. Durante la oxidación del NADH hay tres pasos en los que la variación del potencial

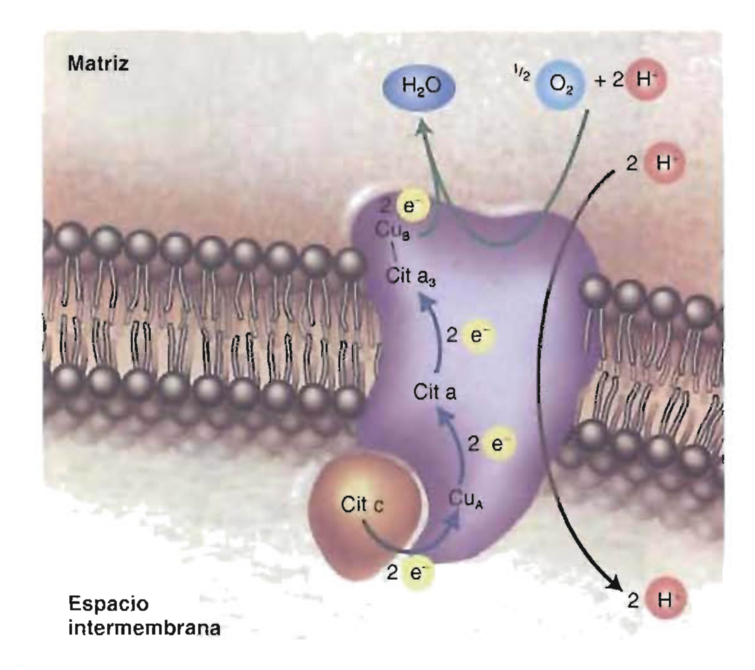


FIGURA 10-8

Transporte electrónico a través del complejo IV.

Cada una de las dos moléculas reducidas de cit c cede dos electrones de uno en uno al Cu_A. Los electrones se transfieren a continuación al cit a, cit a_3 y Cu_B. La transferencia de un total de cuatro electrones desde el cit c convierte al O_2 y cuatro protones en dos moléculas de agua. (La semirreacción se presenta en la figura.) Por cada par de electrones donados por el NADH a cada átomo de oxígeno se transfieren un total de 10 protones a través de la membrana.

de reducción ($\Delta E^{0\prime}$) es suficiente para sintetizar ATP. Estos pasos, que se producen en los complejos I, III y IV, se denominan lugares I, II y III, respectivamente (Fig. 10-9). Las pruebas experimentales más recientes indican que aproximadamente se sintetizan 2.5 moléculas de ATP por cada par de electrones que se transfieren entre el NADH y el O_2 en la CTE. En la transferencia de cada par donado por el $FADH_2$ producido por la oxidación del succinato se forman aproximadamente 1.5 moléculas. En la página 307 se describe el mecanismo por el que se cree que el transporte electrónico está acoplado a la síntesis de ATP.

CONCEPTOS CLAVE 10.1

La cadena de transporte electrónico es un conjunto de complejos formados por transportadores electrónicos que se encuentra en la membrana mitocondrial interna de las células eucariotas.

Inhibidores del transporte electrónico

Varias moléculas inhiben de forma específica el proceso de transporte electrónico (Fig. 10-10). Los inhibidores han sido muy valiosos para determinar el orden correcto de los componentes de la CTE cuando se han utilizado junto con las medidas del potencial de reducción. En estos experimentos se mide el transporte electrónico con un electrodo de oxígeno. (El consumo de oxígeno es una medida sensible del transporte electrónico.) Cuando está inhibido el transporte electrónico, el consumo de oxígeno se reduce o elimina. Los componentes oxidados de la CTE se acumulan en el lado del oxígeno del lugar de la inhibición. Los componentes reducidos de la CTE se acumulan en el lado contrario al del oxígeno del lugar de la inhibición. Por ejemplo, la antimicina A inhibe al cit b. Si se añade este inhibidor a una suspensión de mitocondrias, quedan más reducidas las moléculas de NAD^+, las flavinas y el cit b. Los citocromos c_1, c y a quedan más oxidados. Otros ejemplos destacados de inhibidores de la CTE son la rotenona y el amital, que inhiben a la NADH deshidrogenasa (complejo I). El monóxido de carbono (CO), la azida (N_3^-) y el cianuro (CN^-) inhiben la citocromo oxidasa.

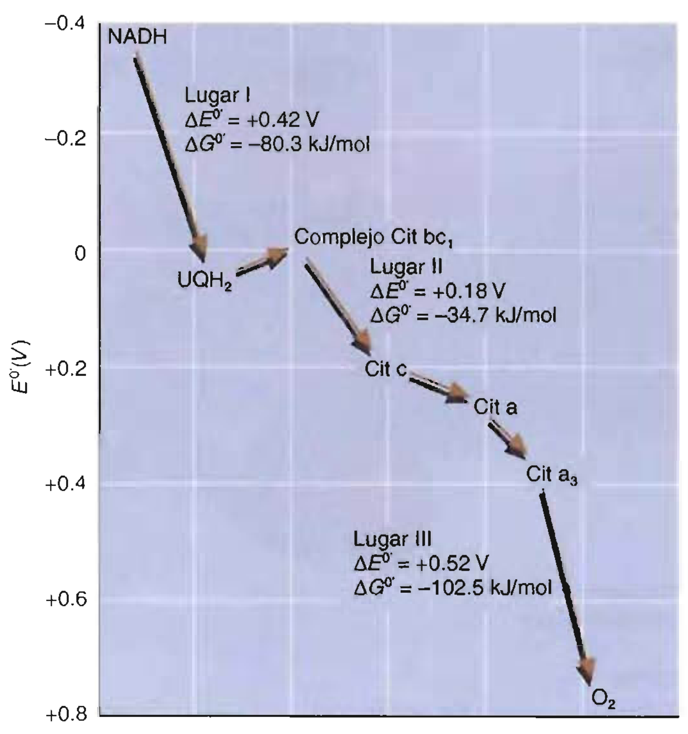


FIGURA 10-9

Relaciones energéticas en la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

En tres pasos se producen descensos relativamente grandes de la energía libre. Durante cada uno de estos pasos (es decir, en los lugares I, II y III), se libera energía suficiente para producir la síntesis de ATP.

NHCHO **Antimicina**

Amital **Rotenona**

FIGURA 10-10

Varios inhibidores de la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

La antimicina bloquea la transferencia de electrones desde los citocromos b. El amital y la rotenona bloquean la NADH deshidrogenasa.

PREGUNTA 10.1

¿Qué compuesto de cada uno de los pares siguientes es el mejor reductor?

a. NADH/H_2O

b. UQ/$FADH_2$

c. Cit c (oxidado)/cit c (reducido)

d. $FADH_2$/NADH

e. NADH/$FMNH_2$

CUADRO 10-1

Componentes supramoleculares de la cadena de transporte electrónico

Complejo enzimático	Grupos prostéticos
Complejo I (NADH deshidrogenasa)	FMN, FeS
Complejo II (Succinato deshidrogenasa)	FAD, FeS
Complejo III (Complejo citocromo bc_1)	Hemos, FeS
Citocromo c	Hemo
Complejo IV (Citocromo oxidasa)	Hemos, Cu

10.2. FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

La **fosforilación oxidativa**, el proceso por el que la energía generada por la CTE se conserva mediante la fosforilación del ADP para dar ATP, se ha estudiado desde los años 1940. El único tipo de reacción de fosforilación con la que los bioquímicos estaban familiarizados hasta entonces era la fosforilación a nivel del sustrato (p. ej., la oxidación y la consiguiente fosforilación del gliceraldehído-3-fosfato para formar bisfosfoglicerato, pág. 240). No es, por tanto, sorprendente que el primer mecanismo que se propusiera para explicar el acoplamiento del transporte electrónico con la síntesis de ATP implicara un intermediario de energía elevada. De acuerdo con la *hipótesis del acoplamiento químico*, se utiliza un intermediario de energía elevada que se genera por el proceso de transporte electrónico en una segunda reacción para impulsar la formación de ATP a partir de ADP y P_i. A pesar de los grandes esfuerzos investigadores realizados durante varias décadas, nunca se identificó el intermediario propuesto. Además, la hipótesis no podía explicar varios hallazgos experimentales. Por ejemplo, no podía explicar por qué impedían la síntesis de ATP durante el transporte electrónico determinadas moléculas denominadas desacopladoras. Además, y lo que es más importante, la hipótesis del acoplamiento químico no explicaba por qué debía estar intacta toda la membrana mitocondrial durante la síntesis de ATP.

Teoría quimiosmótica

En 1961, Peter Mitchell, un bioquímico británico, propuso un mecanismo por el que la energía libre que se genera durante el transporte electrónico impulsa la síntesis de ATP. Aceptado actualmente, el modelo de Mitchell, que se denomina **teoría quimiosmótica de acoplamiento** (Fig. 10-11) tiene las siguientes características principales:

1. Al pasar los electrones a través de la CTE, se transportan protones desde la matriz y se liberan en el espacio intermembrana. Como consecuencia, se crea un potencial eléctrico Ψ y un gradiente de protones ΔpH a través de la membrana interna. El gradiente electroquímico de protones se denomina **fuerza protón motriz** Δp.
2. Los protones, que se encuentran con un gran exceso en el espacio intermembrana, pueden pasar a través de la membrana interna y volver a la matriz a favor de su gradiente de concentración sólo a través de canales especiales. (La membrana interna es en sí misma impermeable tanto a los iones como a los protones.) Al producirse el flujo termodinámicamente favorable a través de un canal, que contiene una actividad ATP sintasa, se produce la síntesis de ATP.

Mitchell sugirió que la energía libre que se libera en el transporte electrónico y la síntesis de ATP se acopla por la fuerza protón motriz creada por la CTE. (El término *quimiosmótico* destaca que las reacciones químicas pueden acoplarse a los gradientes osmóticos.) En la Figura 10-12 se da una visión general del modelo quimiosmótico tal y como funciona en la mitocondria.

Transferencia electrónica: un dispositivo de vida

La transferencia de electrones con intervención de las proteínas es un dispositivo que se emplea en diversas transformaciones biológicas. Los procesos de transferencia electrónica, bien conocidos, son el sistema de transporte electrónico mitocondrial, la fotosíntesis (Capítulo 13) y la fijación del nitrógeno (Capítulo 15). Entre las reacciones bioquímicas mucho menos conocidas en las que la transferencia de electrones desempeña un papel crucial se encuentran la síntesis de óxido nítrico y los sistemas de transporte electrónico del citocromo P_{450}. A continuación se da un breve bosquejo de cada uno de estos mecanismos.

Síntesis de óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un gas muy reactivo. Debido a su estructura de radical libre, el NO se ha considerado, hasta hace poco, un factor que contribuye a la destrucción de la capa de ozono de la atmósfera de la Tierra y un precursor de la lluvia ácida. (Un **radical** es un átomo o molécula con un electrón desapareado.) Sin embargo, las investigaciones recientes han demostrado que el NO es una molécula señalizadora importante que se produce en todo el cuerpo de los mamíferos. Se encuentran concentraciones especialmente elevadas en el sistema nervioso central. Las funciones fisiológicas en las que se cree que el NO desempeña un papel central son la regulación de la presión sanguínea, la inhibición de la coagulación de la sangre y la destrucción por los macrófagos de células extrañas dañadas o cancerosas. La interrupción de la regulación normal precisa de la síntesis de NO se ha ligado a numerosos trastornos patológicos como los accidentes cerebrovasculares, la migraña, la impotencia masculina, el shock septicémico y varias enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson.

El NO se sintetiza por la NO sintasa (NOS), una metaloenzima que contiene hemo y que cataliza una oxidación en dos pasos de la L-arginina a L-citrulina (Fig. 10A). En esta reacción compleja los electrones se transfieren desde el NADPH al O_2 por una cadena de transporte electrónico con varios componentes redox. La enzima funcional es un homodímero (Fig. 10B). Cada monómero posee dos dominios principales. El dominio reductasa posee lugares de unión para el NADPH, el FAD y el FMN. El otro dominio, que posee actividad oxigenasa, une tetrahidrobiopterina (BH_4) y los sustratos arginina y O_2. (La BH_4 es un cofactor redox que se identificó inicialmente como un componente esencial de la hidroxilación de los aminoácidos aromáticos. En el Capítulo 14 se describen su estructura y propiedades.) Entre los dos dominios principales se encuentra el lugar de unión de la calmodulina (CAM), una pequeña proteína ligadora de calcio que regula varias enzimas. La formación del dímero requiere la unión de un grupo hemo Fe^{3+} al dominio oxigenasa de cada monómero. Durante la síntesis del NO, la CAM acelera la velocidad de la transferencia electrónica desde el dominio reductasa al grupo hemo.

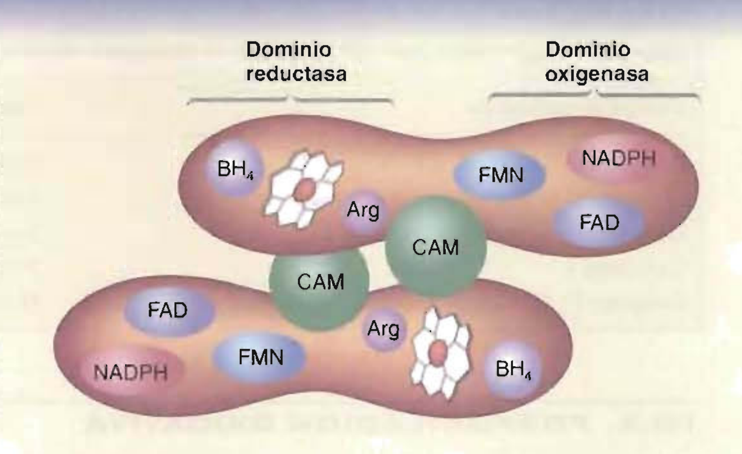


FIGURA 10B

Estructura esquemática de la NOS.

La NOS catalíticamente activa es un homodímero. Cada monómero une NADPH, FAD, FMN, BH_4 y CAM, además de los sustratos arginina y O_2.

La biosíntesis del NO comienza con la hidroxilación de la L-arginina. El NADPH es el origen de los electrones de esta reacción, que cede 2 electrones al FAD, que a su vez reduce al FMN. No está claro la función de la BH_4, pero es esencial para que activen el O_2 los elec-

Arginina — (O_2, 1.0 NADPH, H_2O) → L-Hidroxiarginina — (O_2, 0.5 NADPH, H_2O) → Citrulina + •N=O Óxido nítrico

FIGURA 10A

Reacción catalizada por la NOS.

La biosíntesis del NO es una oxidación en dos pasos de la arginina para formar citrulina. Durante la reacción se consumen 2 moles de O_2 y 1.5 moles de NADPH por mol de citrulina que se forma.

Entre los ejemplos de las pruebas que apoyan la teoría quimiosmótica se encuentran los siguientes:

1. Las mitocondrias que respiran de forma activa expulsan protones. El pH de una suspensión de mitocondrias débilmente amortiguada medido con un elec-

trones cedidos por el NADPH. El producto de esta reacción, la L-hidroxiarginina, permanece unida a la NOS. Aún no se han resuelto los pasos de las reacciones siguientes. Se piensa que la L-hidroxiarginina reacciona con un complejo hemo-peroxi (R—O—OH) para dar citrulina y NO.

Sistemas de transporte electrónico del citocromo P_{450}

Los sistemas de transporte electrónico del citocromo P_{450} son una característica importante de la biotransformación en los animales. La **biotransformación** es un conjunto de procesos catalizados por enzimas en los que las sustancias potencialmente tóxicas y normalmente hidrófobas se convierten en derivados hidrosolubles menos tóxicos que pueden excretarse con mayor facilidad. Entre los sustratos de la biotransformación se encuentran sustancias endógenas, como el colesterol y moléculas ajenas, denominadas xenobióticos, como los fármacos y los componentes no nutritivos del alimento (p. ej., glucósidos y numerosos derivados de ácidos grasos y aminoácidos).

El sistema del citocromo P_{450}, que se encuentra en las membranas microsómica y mitocondrial interna (Fig. 10C) consta de dos enzimas: NADPH-citocromo P_{450} reductasa y citocromo P_{450}. En cada reacción se transfieren dos electrones al tiempo desde el NADPH a una proteína citocromo P_{450} por la NADPH-citocromo P_{450} reductasa. La última enzima es una flavoproteína que contiene FAD y FMN en una proporción 1:1 por mol de enzima.

Las hemoproteínas denominadas citocromo P_{450} se llaman así debido a los complejos que forman con el monóxido de carbono. En presencia del gas, se absorbe fuertemente luz de 450 nm de longitud de onda. Hasta la fecha se han identificado más de 100 genes de citocromo P_{450}. Cada gen codifica una enzima con un intervalo de especificidad único. Las proteínas citocromo P_{450} del hígado poseen especificidades amplias que se solapan. Por ejemplo, se oxidan habitualmente moléculas tan diversas como alcanos, hidrocarburos aromáticos, éteres y sulfuros. Por el contrario, las proteínas P_{450} de las glándulas suprarrenales, los ovarios y los testículos que adicionan grupos hidroxilo a moléculas de esteroides poseen especificidades estrechas. A pesar de su diversidad, todas las isoenzimas citocromo P_{450} contienen 1 mol de hemo. Además, las propiedades físicas y los mecanismos catalíticos de todas las proteínas citocromo P_{450} son semejantes.

A pesar de una enorme variedad de sustratos, todas las reacciones oxidativas catalizadas por el citocromo P_{450} pueden contemplarse como reacciones de hidroxilación (es decir, aparece un grupo OH en cada reacción) (Fig. 10D). La reacción general es la siguiente:

$$R{-}H + O_2 + NADPH + H^+ \longrightarrow ROH + H_2O + NADP^+$$

Donde R—H es el sustrato.

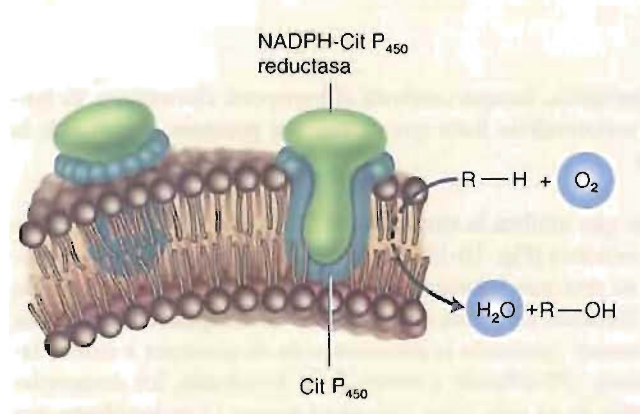


FIGURA 10C

Sistema de transporte electrónico del citocromo P_{450}.
El citocromo P_{450} y la citocromo P_{450} reductasa son componentes de un sistema de transporte electrónico que se utiliza para oxidar moléculas endogénas y exógenas.

(a) $R{-}CH_3 \longrightarrow R{-}CH_2{-}OH$

(b) R—C₆H₅ ⟶ R—C₆H₄—OH

(c) $R_1{-}NH{-}R_2 \longrightarrow R_1{-}N(OH){-}R_2$

(d) $R{-}NH{-}CH_3 \longrightarrow [R{-}NH{-}CH_2{-}OH] \longrightarrow R{-}NH_2 + H{-}C({=}O){-}H$

(e) $R{-}O{-}CH_3 \longrightarrow [R{-}O{-}CH_2{-}OH] \longrightarrow R{-}OH + H{-}C({=}O){-}H$

FIGURA 10D

Diversos sustratos que oxidan las isoenzimas del citocromo P_{450}.
Entre las reacciones catalizadas por el citocromo P_{450} están (a) oxidaciones alifáticas, (b) hidroxilaciones aromáticas, (c) N-hidroxilaciones, (d) N-desalquilaciones y (e) O-desalquilaciones.

trodo cae cuando se añade O_2. El gradiente de pH típico a través de la membrana interna es aproximadamente 0.05 unidades de pH.

2. La síntesis de ATP se detiene cuando la membrana interna se rompe. Por ejemplo, la síntesis de ATP se detiene cuando se colocan las mitocondrias en

La reacción de oxigenación se inicia cuando el sustrato se une al citocromo P_{450} oxidado (Fe^{3+}). Esta unión estimula una reducción del complejo enzima-sustrato por un electrón transferido del NADPH a través de la citocromo P_{450} reductasa (Fe^{2+}—sustrato). Tras la reducción, el citocromo P_{450} puede unir el O_2. Luego, el electrón del hierro del hemo se transfiere al O_2 unido, formando así una especie transitoria [$Fe^{3+}(O_2^-)$]—sustrato. (Si el sustrato unido se oxida fácilmente, puede convertirse en un radical peroxi.) Un segundo electrón que se transfiere desde la flavoproteína da lugar a la generación de un complejo [$Fe^{3+}(O_2^{2-})$]—sustrato. Esta breve asociación finaliza cuando el enlace oxígeno-oxígeno se rompe. Se libera un átomo de oxígeno en una molécula de agua, mientras que el otro permanece unido al hemo. Tras extraerse del sustrato un átomo de hidrógeno o un electrón, se transfiere al sustrato la especie de oxígeno (ahora un potente oxidante). El ciclo termina con la liberación del producto del lugar activo. Dependiendo de la naturaleza del sustrato, el producto es un epóxido (anillo de tres miembros que contiene un grupo éter) o un alcohol.

Los epóxidos son muy reactivos. Se ha visto que se unen irreversiblemente al DNA, al RNA y a las proteínas, y se han implicado en la carcinogénesis. Muchos epóxidos se hidrolizan a productos diol (moléculas que contienen dos grupos OH adyacentes) por la epóxido hidroxilasa, una enzima microsómica (Fig. 10E). En la mayoría de los casos los dioles que se forman son menos reactivos y menos tóxicos que el epóxido de partida. Sin embargo, con algunos hidrocarburos policíclicos (p. ej., benzo[a]pireno) los dioles que se forman son precursores de metabolitos cancerígenos.

Entre los ejemplos de reacciones endógenas de biotransformación catalizadas por los sistemas de transporte electrónico del citocromo P_{450} se encuentra la conversión de la vitamina D_3 en su forma biológicamente activa 1,2-dihidroxivitamina D_3.

FIGURA 10E

Conversión de los sustratos en alcoholes a través de un intermediario epóxido.

(a) Sustratos alifáticos, como los hidrocarburos. (b) Sustratos aromáticos, como el benceno.

una disolución hipertónica, aunque continúe el transporte electrónico. El hinchamiento de las mitocondrias hace que se pierdan protones a través de la membrana interna.

3. Diversas moléculas que inhiben la síntesis de ATP disipan de forma específica el gradiente de protones (Fig. 10-13). De acuerdo con la teoría quimiosmótica, un gradiente de protones interrumpido disipa la energía que procede de las moléculas del alimento en forma de calor. Los **desacopladores** colapsan el gradiente de protones igualando la concentración de protones a ambos lados de las membranas. (Al difundir a través de la membrana, los desacopladores toman protones de un lado y los liberan en el otro.) Los **ionóforos** son moléculas hidrófobas que disipan los gradientes osmóticos insertándose ellos mismos en la membrana y formando un canal. Por ejemplo, la gramicidina es un antibiótico que forma un canal en las membranas por el que pasan H^+, K^+ y Na^+.

CONCEPTOS CLAVE 10.2

En los organismos aerobios la energía que se utiliza para impulsar la síntesis de la mayoría de las moléculas de ATP es la fuerza protón motriz. Ésta se genera al liberarse la energía libre cuando los electrones fluyen a través de la cadena de transporte electrónico.

Los gradientes de protones que generan los sistemas de transporte electrónico se disipan con dos fines generales: el ATP se sintetiza al fluir los protones a través de la ATP sintasa y se utiliza la pérdida regulada de los protones para impulsar varias clases de trabajo biológico. Se describe la síntesis de ATP y su regulación dentro de las mitocondrias y luego se da una breve visión general de la generación de energía a partir de la glucosa. La Sección 10.2 finaliza con una consideración de la termogénesis sin tiritera, un mecanismo en el que el gradiente mitocondrial de protones de determinadas células animales se utiliza para regular la temperatura corporal.

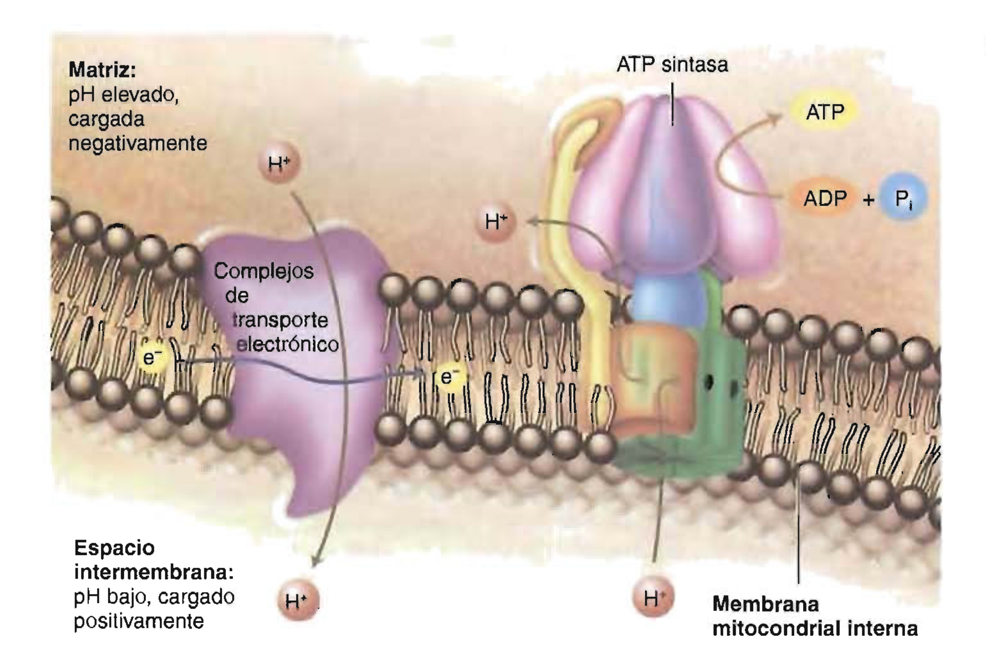


FIGURA 10-11

Teoría quimiosmótica.

El flujo de electrones a través de los complejos de transporte electrónico está acoplado al flujo de protones a través de la membrana interna desde la matriz hasta el espacio intermembrana. Este proceso incrementa el pH de la matriz. Además, la matriz queda cargada negativamente con respecto al espacio intermembrana. Los protones fluyen pasivamente a la matriz a través de un canal en la ATP sintasa. Este flujo está acoplado a la síntesis de ATP.

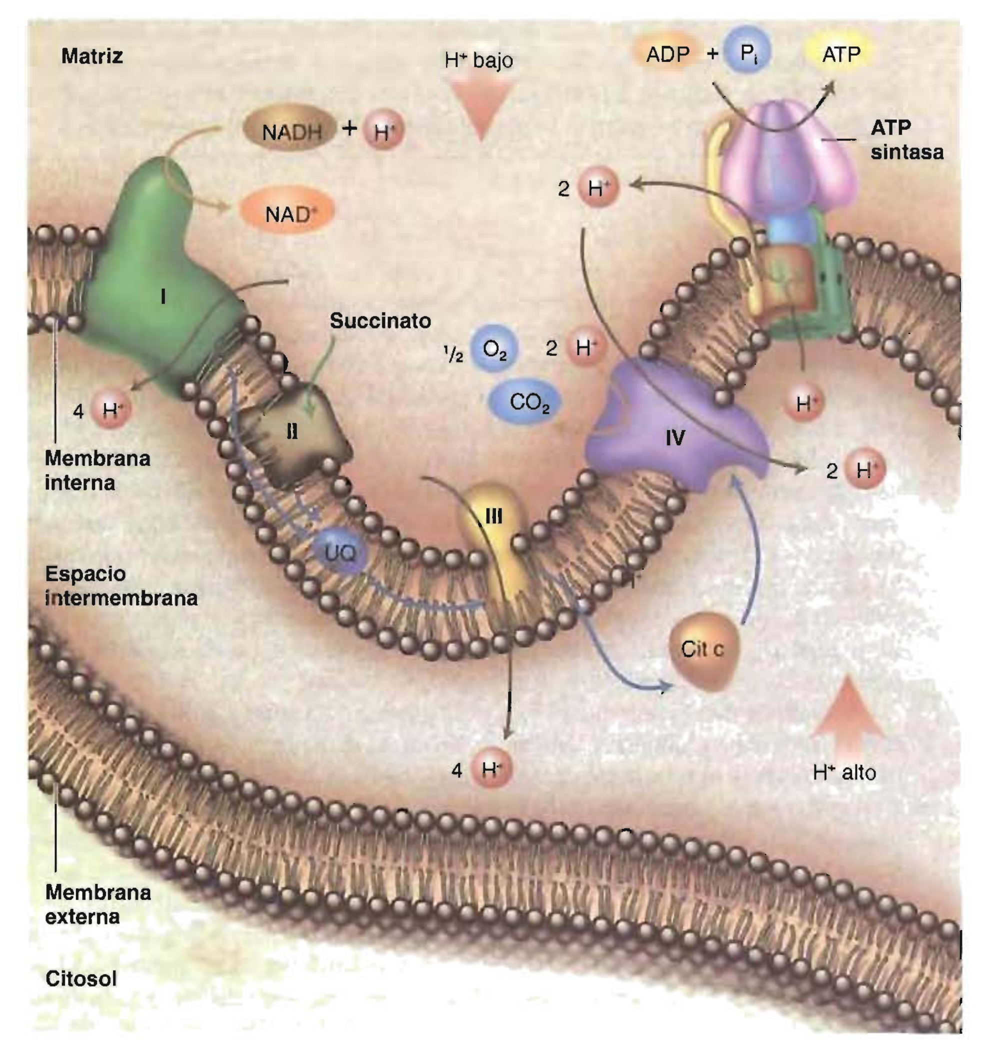


FIGURA 10-12

Visión general del modelo quimiosmótico.

En el modelo de Mitchell los protones se impulsan desde la matriz mitocondrial a través de la membrana interna y dentro del espacio intermembrana por el mecanismo de transporte electrónico. La energía capturada del transporte electrónico se utiliza para crear un potencial eléctrico y un gradiente de protones. Debido a que la membrana interna es impermeable a los protones, sólo pueden atravesar la membrana fluyendo a través de canales específicos de protones. El flujo de protones a través de la ATP sintasa impulsa la síntesis de ATP. (Véase la Figura 10-1 para unas breves descripciones de las funciones de los complejos I, II, III y IV en el transporte electrónico.)

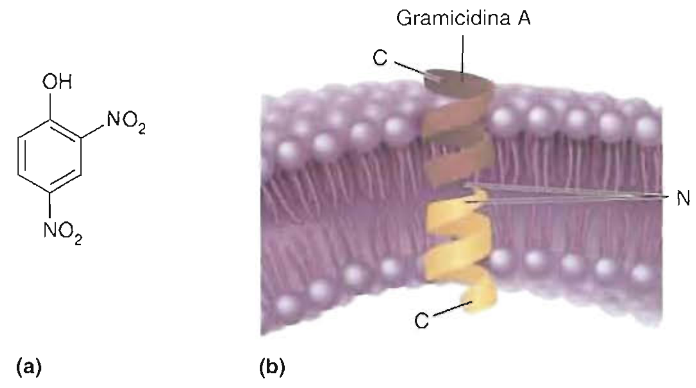


FIGURA 10-13

Desacopladores.

(a) Dinitrofenol, (b) gramicidina A. El dinitrofenol difunde a través de la membrana, tomando los protones de un lado y liberándolos en el otro. La gramicidina A, un péptido de 11 residuos, forma un dímero extremo con extremo, que crea en la membrana un poro permeable a los protones. (C = extremo carboxilo; N = extremo amino) De J.D. Rawn, *Biochemistry*, © 1989, pág. 1039, Fig. 31.18. Reproducido con permiso de Prentice-Hall, Inc., Upper Saddler River, NJ.

PREGUNTA 10.2

El dinitrofenol (DNP) es un desacoplador que se utilizó como complemento dietético en los años 1920, hasta que se produjeron varios fallecimientos. Sugiera por qué el consumo de DNP produce pérdida de peso. Los fallecimientos producidos por el DNP se debieron a insuficiencia hepática. Explíquelo. (*Pista*: Las células hepáticas contienen un número extraordinariamente grande de mitocondrias.)

Síntesis de ATP

Los primeros estudios de microscopía electrónica descubrieron la presencia de numerosas estructuras con forma de pirulí salpicando la superficie interna de la membrana interna (Fig. 10-14). Los experimentos que comenzaron en los primeros años de la década de los sesenta, utilizando partículas submitocondriales, descubrieron que cada pirulí es una ATP sintasa que traslada protones. (Las *partículas submitocondriales*, o SMP, son pequeñas vesículas membranosas que se forman cuando se sonican las mitocondrias. La Figura 10-14a indica que las SMP están hacia fuera, es decir, los pirulís se proyectan hacia el exterior.) Los trabajos posteriores demostraron que la ATP sintasa (Fig. 10-15) está formada por dos componentes principales. La unidad F_1, la ATPasa activa, posee cinco subunidades diferentes presentes en la relación α_3, β_3, γ, δ y ε. Existen tres lugares catalíticos en F_1 que unen nucleótidos. La unidad F_0, un canal transmembrana para los protones, posee tres subunidades presentes con una relación a, b_2 y c_{12}.

Actualmente se piensa que se requiere la translocación de 3 protones a través de la ATP sintasa para sintetizar cada molécula de ATP. (Se requiere la transferencia de otro protón para el transporte de ATP y OH^- fuera de la matriz intercambiados por ADP y P_i.) Parece que el efecto de la fuerza protón motriz es inducir un giro de tres pasos de 120° de cada una de las unidades F_0. El componente rotor (o giratorio) de esta máquina molecular está formado por las subunidades ε, γ y c_{12}, mientras que las subunidades a, b_2, δ, α_3 y β_3 forman el componente estátor (o estacionario).

Al fluir los protones a través de F_0, el giro de c_{12} (el canal de protones) se transfiere a la subunidad γ que se proyecta dentro del centro del componente F_1. El giro de la subunidad γ la coloca en tres posiciones posibles con relación a cada dímero $\alpha\beta$. La afinidad de unión de la subunidad catalítica β varía con la posición alternante

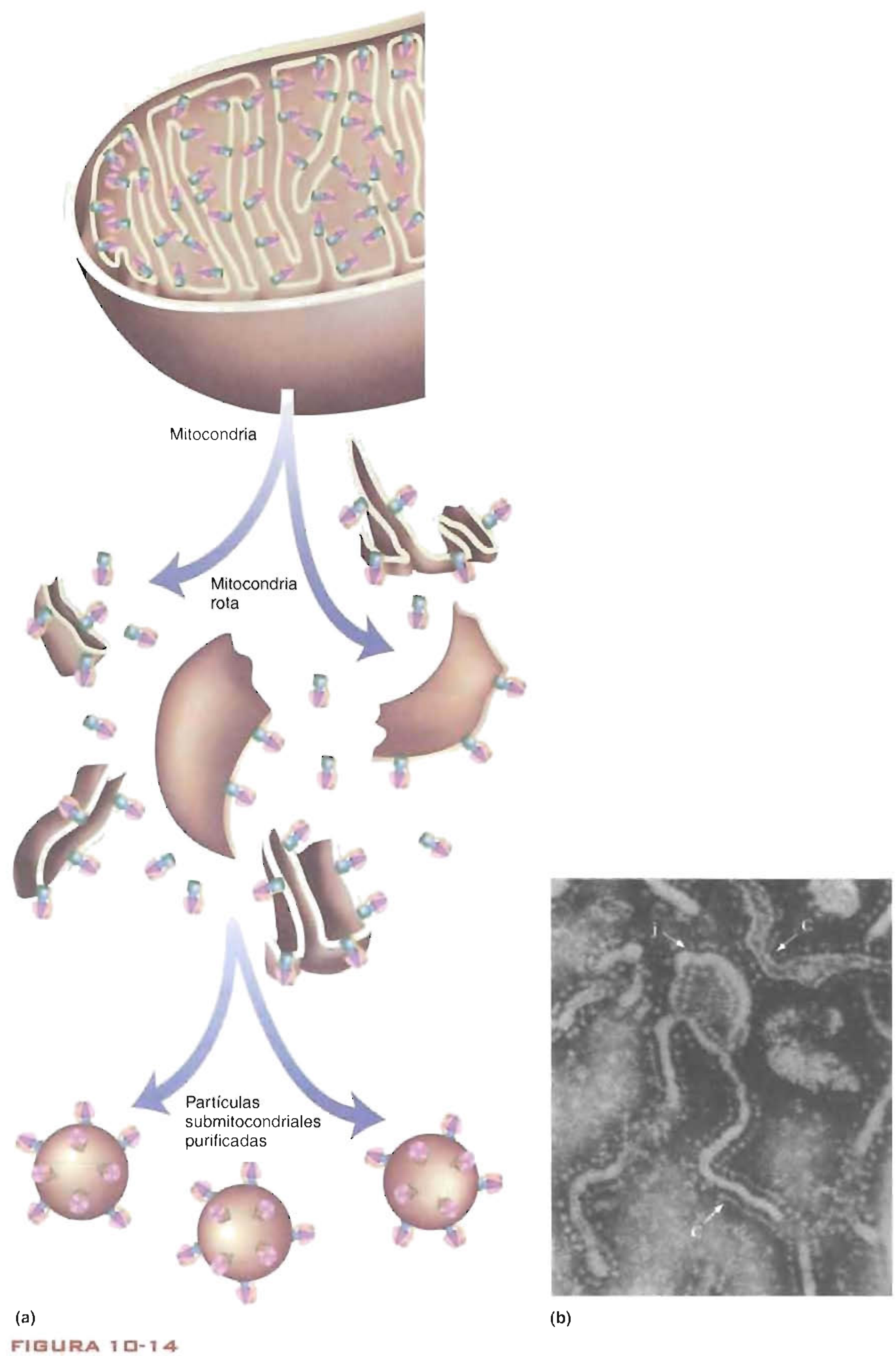


FIGURA 10-14

ATP sintasa

(a) Tras romperse las mitocondrias, los fragmentos de la membrana interna se vuelven a unir para formar partículas submitocondriales invertidas. (b) Una de las primeras micrografías electrónicas de las partículas submitocondriales que descubría las estructuras en forma de «pirulí» que finalmente se identificaron como la ATP sintasa.

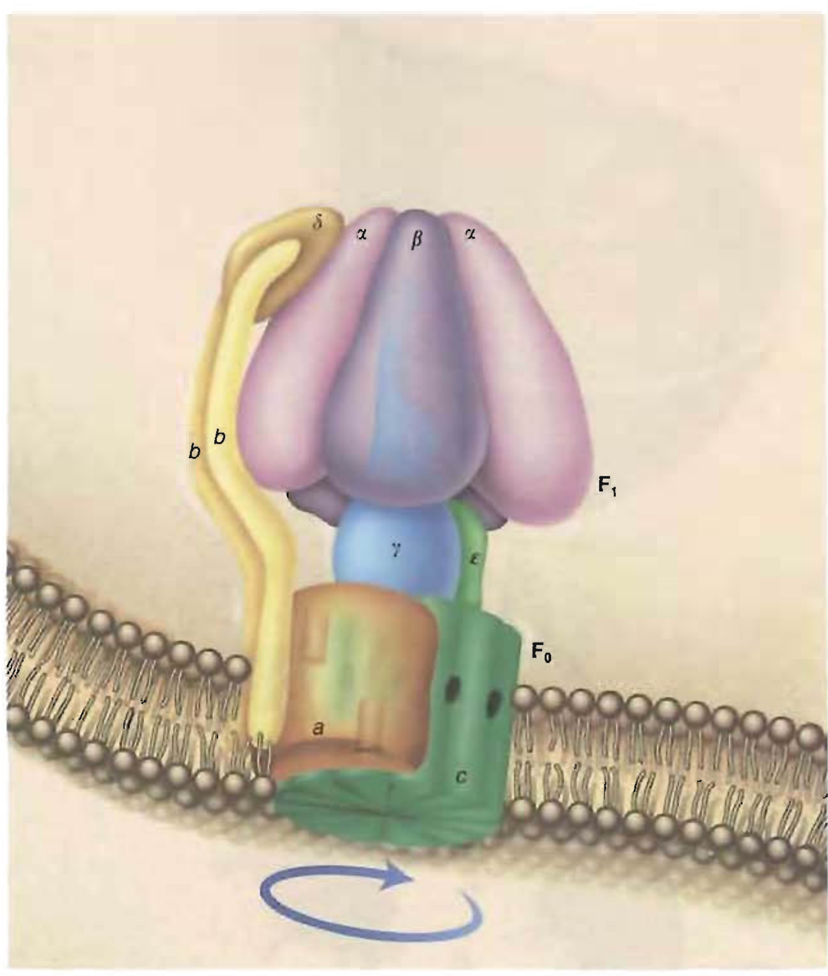


FIGURA 10-15

ATP sintasa de *Escherichia coli*.

El rotor consta de las subunidades ε, γ y c_{12}. El estátor consta de las subunidades a, b_2, δ, α_3 y β_3. Los componentes moleculares de la ATP sintasa están muy conservados entre las bacterias, los vegetales y los animales.

de la subunidad γ. La conformación A une débilmente ADP y P_i, la conformación B aproxima los sustratos para facilitar la formación de ATP, y la conformación C es una forma no ligadora que expulsa eficazmente al ATP de su lugar activo. El último paso es el que actúa como fuerza impulsora de la reacción. Sin un gradiente de protones, el rotor no funciona. La dirección del flujo de protones determina la dirección de giro del rotor y la dirección de la reacción.

PREGUNTA 10.3

Una suspensión de partículas submitocondriales al revés se coloca en una disolución que contiene ADP, P_i y NADH. ¿Producirá el aumento de $[H^+]$ de la disolución la síntesis de ATP? Explíquelo.

Control de la fosforilación oxidativa

El control de la fosforilación oxidativa permite a la célula producir sólo la cantidad de ATP que se requiere de inmediato para mantener sus actividades. Recuerde que en circunstancias normales el transporte electrónico y la síntesis de ATP están estre-

chamente acopladas. El valor del *cociente P/O* (el número de moles de P_i que se consumen para que se reduzca cada átomo de oxígeno a H_2O) refleja el grado de acoplamiento que se observa entre el transporte electrónico y la síntesis de ATP. El cociente máximo medido para la oxidación del NADH es 2.5. El cociente P/O máximo para el $FADH_2$ es 1.5.



El control de la fosforilación oxidativa por la concentración de ATP está ilustrado por el hecho de que las mitocondrias sólo pueden oxidar el NADH y el $FADH_2$ cuando hay una concentración suficiente de ADP y P_i. Cuando se les proporciona a las mitocondrias aisladas un sustrato oxidable (p. ej., succinato), todo el ADP se convierte con el tiempo en ATP. En este punto, disminuye mucho el consumo de oxígeno. Éste aumenta considerablemente cuando se suministra ADP. El control de la respiración aerobia por el ADP se denomina **control respiratorio**. La formación de ATP parece estar fuertemente relacionada con el cociente de acción de masas del ATP ([ATP]/[ADP][P_i]). En otras palabras, la ATP sintasa se inhibe por una concentración elevada de su producto (ATP) y se activa cuando las concentraciones de ADP y P_i son elevadas. Las cantidades relativas de ATP y ADP dentro de las mitocondrias están controladas en gran medida por las dos proteínas de transporte de la membrana interna: el translocalizador ADP-ATP y el transportador de fosfato.

El *translocalizador ADP-ATP* (Fig. 10-16) es una proteína dimérica responsable del intercambio 1:1 del ATP intramitocondrial por el ADP producido en el citoplas-

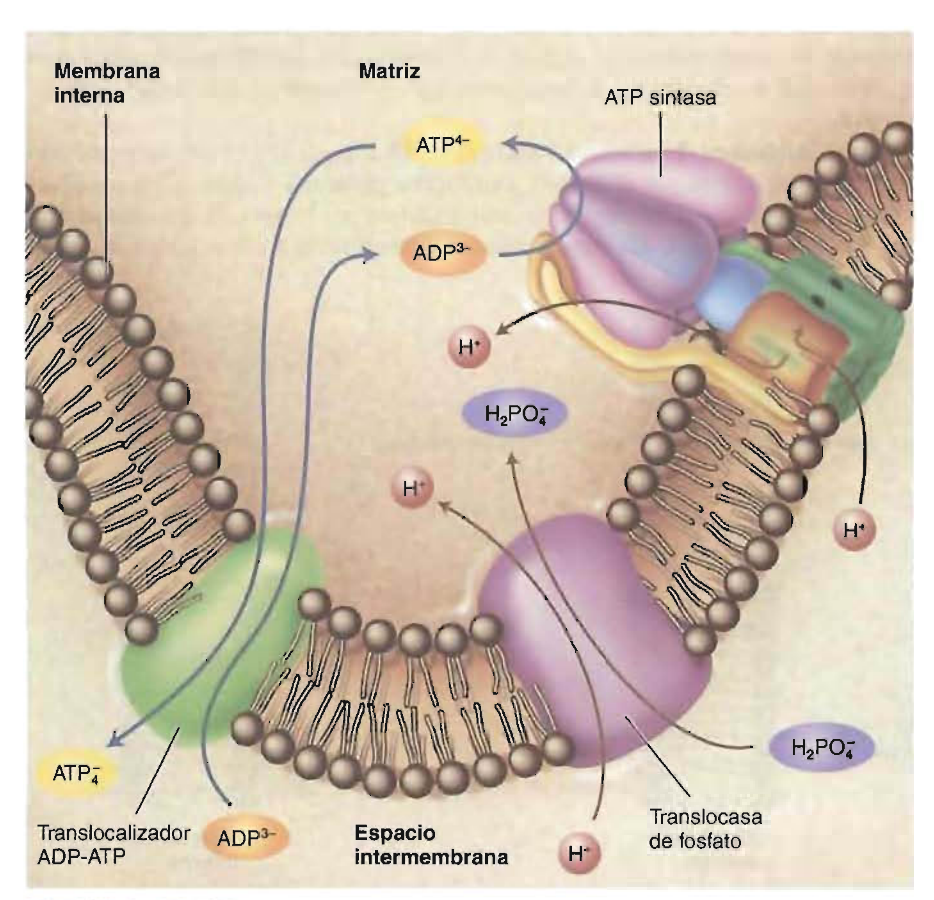


FIGURA 10-16

El translocalizador ADP-ATP y la translocasa de fosfato.

El transporte de $H_2PO_4^-$ a través de la membrana mitocondrial interna por la translocasa de fosfato está impulsado por el gradiente de protones. Por cada 4 protones que se transportan fuera de la matriz, 3 impulsan el rotor de la ATP sintasa y 1 impulsa el transporte de fosfato al interior. El intercambio simultáneo de ADP^{3-} y ATP^{4-}, que se requiere para la síntesis continua de ATP y que se produce por el translocalizador ADP-ATP, está impulsado por la diferencia de potencial a través de la membrana interna.

ma. Como se ha descrito anteriormente, existe una diferencia de potencial a través de la membrana mitocondrial interna (interior negativo). Dado que las moléculas de ATP tienen una carga negativa más que las moléculas de ADP, está favorecido el transporte hacia fuera del ATP y el transporte hacia dentro del ADP. El transporte de $H_2PO_4^-$ junto con un protón se produce por medio de la translocasa de fosfato, que también se denomina simporte de $H_2PO_4^-/H^+$. (Los *simporte* son proteínas de transporte transmembrana que mueven los solutos a través de la membrana en la misma dirección. Véase la Sección 11.2, donde se consideran los mecanismos de transporte de membrana.) Se requiere el transporte hacia dentro de 4 protones para la síntesis de cada molécula de ATP, 3 para impulsar el rotor de la ATP sintasa y 1 para impulsar el transporte hacia dentro del fosfato.

CONCEPTOS CLAVE 10.3

El cociente P/O refleja el acoplamiento entre el transporte electrónico y la síntesis de ATP. Los cocientes P/O máximos medidos para el NADH y el $FADH_2$ son 2.5 y 1.5, respectivamente.

Oxidación total de la glucosa

En el Cuadro 10-2 se resume el origen del ATP que produce una molécula de glucosa. En el Capítulo 12 se considera la producción de ATP a partir de los ácidos grasos, otra fuente importante de energía. Recuerde que durante la glucólisis se producen dos moléculas de NADH. Cuando se dispone de oxígeno, la oxidación de este NADH por la CTE es preferible (en términos de producción de energía) a la formación de lactato. Sin embargo, la membrana mitocondrial interna es impermeable al NADH. Las células animales han generado varios mecanismos de lanzadera para transferir los electrones desde el NADH citoplásmico a la CTE mitocondrial. Los ejemplos más destacados son la lanzadera del glicerol fosfato y la lanzadera malato-aspartato.

En la **lanzadera del glicerol fosfato** (Fig. 10-17a), la DHAP, un intermediario glucolítico, se reduce por el NADH para formar glicerol-3-fosfato. Tras esta reacción se produce la oxidación del glicerol-3-fosfato por la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial. (La enzima mitocondrial utiliza el FAD como aceptor elec-

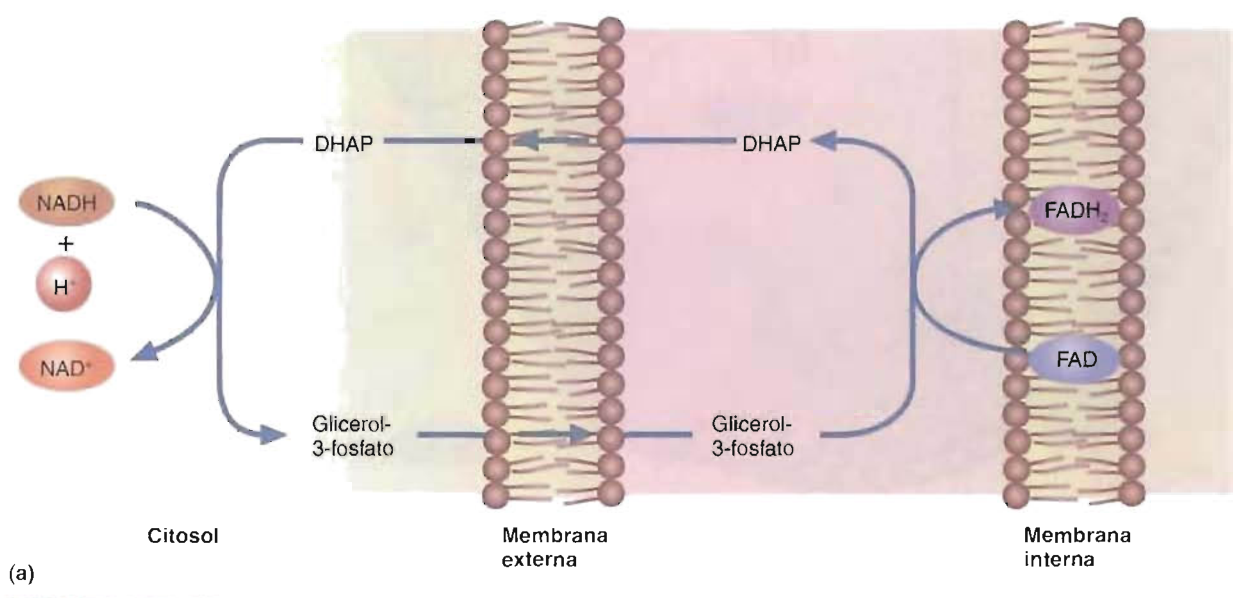


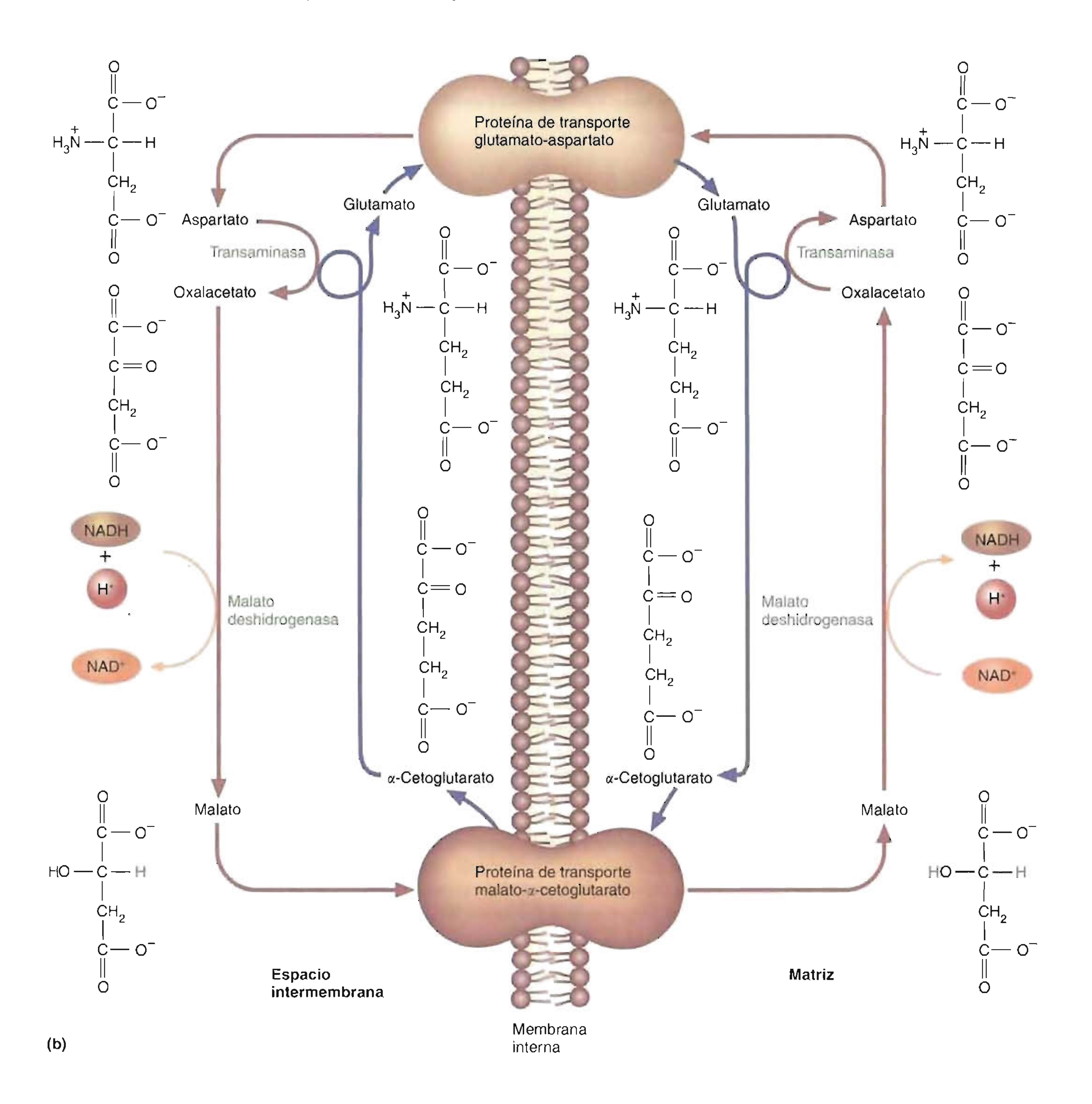
FIGURA 10-17

Mecanismos de lanzadera que transfieren los electrones del NADH citoplásmico a la cadena respiratoria.

(a) Lanzadera del glicerol fosfato. La dihidroxiacetona fosfato (DHAP) se reduce para formar glicerol-3-fosfato (G-3-P), que se reoxida por la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial. (b) Lanzadera aspartato-malato. El oxalacetato se reduce por el NADH para formar malato, que se transporta a la matriz mitocondrial donde se reoxida para formar oxalacetato y NADH. Debido a que el oxalacetato no puede atravesar la membrana interna, se convierte en aspartato en una transaminación con participación del glutamato. Se requieren dos transportadores de la membrana interna para este mecanismo de lanzadera: la proteína de transporte glutamato-aspartato y la proteína de transporte malato-α-cetoglutarato.

trónico.) Dado que el glicerol-3-fosfato interacciona con la enzima mitocondrial sobre la cara externa de la membrana interna, el sustrato realmente no entra en la matriz. El $FADH_2$ que se produce en esta reacción se oxida posteriormente en la CTE. El FAD como aceptor electrónico sólo produce 1.5 ATP por molécula de NADH citoplásmico.

Aunque la **lanzadera malato-aspartato** (Fig. 10-17b) es un mecanismo más complicado que la lanzadera del glicerol fosfato, es energéticamente más eficaz. La lanzadera comienza con la reducción del oxalacetato citoplásmico a malato por el NADH. Tras su transporte a la matriz mitocondrial, el malato se reoxida. El NADH que se produce se oxida posteriormente por la CTE. Para que continúe la lanzadera, el oxalacetato debe volver al citoplasma. Debido a que la membrana interna es im-



CUADRO 10-2

Resumen de la síntesis de ATP a partir de la oxidación de una molécula de glucosa

	NADH	$FADH_2$	ATP
Glucólisis (citoplasma)			
Glucosa ⟶ glucosa-6-fosfato			−1
Fructosa-6-fosfato ⟶ fructosa-1,6-bisfosfato			−1
Gliceraldehído-3-fosfato ⟶ glicerato-1,3-bisfosfato	+2		
Glicerato-1,3-bisfosfato ⟶ glicerato-3-fosfato			+2
Fosfoenolpiruvato ⟶ piruvato			+2
Reacciones mitocondriales			
Piruvato ⟶ acetil-CoA	+2		
Ciclo del ácido cítrico			
Oxidación del isocitrato, α-cetoglutarato y malato	+6		
Oxidación del succinato		+2	
GDP ⟶ GTP			+1.5*
Fosforilación oxidativa			
2 NADH glucolíticos			+4.5† (3)‡
2 NADH (piruvato a acetil-CoA)			+5
6 NADH (ciclo del ácido cítrico)			+15
2 $FADH_2$ (ciclo del ácido cítrico)			+3
			31 (29.5)

* Este número refleja el precio del transporte al citoplasma.
† Supone la lanzadera malato-aspartato.
‡ Supone la lanzadera del glicerol-fosfato.

permeable al oxalacetato, éste se convierte en aspartato en una reacción de transaminación (Capítulo 15) con la participación del glutamato.

El aspartato se transporta al citoplasma intercambiado con el glutamato (por medio de la proteína de transporte glutamato-aspartato), donde puede convertirse en oxalacetato. El α-cetoglutarato se transporta al citoplasma intercambiado con el malato (por medio de la proteína de transporte malato-α-cetoglutarato), donde puede convertirse en glutamato. El transportador glutamato-aspartato requiere el movimiento de un protón a la matriz. Por lo tanto, la síntesis neta de ATP utilizando este mecanismo es algo más reducida. En lugar de generar 2.5 moléculas de ATP por cada molécula de NADH, el rendimiento es aproximadamente de 2.25 moléculas de ATP.

Queda aún una última cuestión relacionada con la síntesis de ATP a partir de la glucosa. Recuerde que se producen dos moléculas de ATP en el ciclo del ácido cítrico (a partir de GTP). El precio de su transporte al citoplasma, donde va a utilizarse, es la captura de dos protones a la matriz. Por lo tanto, la cantidad total de ATP que se produce a partir de una molécula de glucosa se reduce en 0.5 moléculas de ATP.

Dependiendo de la lanzadera que se utilice, el número total de moléculas de ATP que produce cada molécula de glucosa varía (aproximadamente) desde 29.5 a 31. Suponiendo que la cantidad promedio de ATP que se produce es de 30 moléculas, la reacción neta de la oxidación total de la glucosa es la siguiente:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 + 30\ ADP + 30\ P_i \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O + 30\ ATP$$

El número de moléculas de ATP que se generan durante la oxidación total de la glucosa contrasta de forma señalada con las dos moléculas de ATP que se forman por la glucólisis. Obviamente, los organismos que utilizan el oxígeno para oxidar la glucosa tienen una ventaja sustancial.

CONCEPTOS CLAVE 10.4

La oxidación aerobia de la glucosa proporciona entre 29.5 y 31 moléculas de ATP.

Tradicionalmente, la oxidación de cada NADH y $FADH_2$ por la CTE se pensaba que daba lugar a la síntesis de tres moléculas de ATP y dos moléculas de ATP, respectivamente. Como se ha indicado, las medidas más recientes, que consideran los factores como la pérdida de protones a través de la membrana interna, han reducido algo estos valores. Utilizando los primeros valores, calcule el número de moléculas de ATP que se generan por la oxidación aerobia de una molécula de glucosa. Primero suponga que actúa la lanzadera del glicerol fosfato y luego suponga que la lanzadera malato-aspartato transfiere los equivalentes reductores a la mitocondria.

PREGUNTA 10.4

Calcule el número máximo de ATP que puede generarse a partir de un mol de sacarosa.

PREGUNTA 10.5

Transporte electrónico desacoplado y generación de calor

Los recién nacidos, los animales que hibernan y los animales adaptados al frío requieren una mayor producción de calor que la que normalmente genera el metabolismo. Recuerde del Capítulo 4 que el calor es una consecuencia de las reacciones celulares que crean un estado ordenado. (La pérdida de calor, la forma más desorganizada de energía, aumenta la entropía del entorno.) Los animales de sangre caliente utilizan este calor para mantener su temperatura corporal. En condiciones normales, el transporte electrónico y la síntesis de ATP se encuentran fuertemente acoplados, de forma que se reduce al mínimo la producción de calor. En una forma especializada de tejido adiposo que se denomina *grasa parda*, la mayor parte de la energía que produce la CTE mitocondrial no se utiliza para generar ATP, sino que se disipa en forma de calor. (Este tejido tiene un aspecto pardo debido al gran número de mitocondrias que contiene.) Aproximadamente el 10% de las proteínas de la membrana mitocondrial interna de las células de la grasa parda es una proteína singular de 33 kD que se denomina **proteína desacopladora (UCP)** o *termogenina*. Cuando la proteína desacopladora es activa, disipa el gradiente de protones mediante translocación de los protones. La proteína desacopladora se activa cuando se une a ácidos grasos. Al disminuir el gradiente de protones, se disipa en forma de calor una gran cantidad de energía.

El proceso completo de generación de calor por la grasa parda, que se denomina *termogénesis sin tiritera*, está regulado por la noradrenalina. (En la termogénesis con tiritera se produce calor por la contracción muscular involuntaria.) La noradrenalina, un neurotransmisor que libera neuronas especializadas que terminan en el tejido asiposo pardo, inicia un mecanismo en cascada que finalmente hidroliza las moléculas de grasa. Los ácidos grasos producto de la hidrólisis de las grasas activan la proteína desacopladora. La oxidación de los ácidos grasos continúa hasta que termina la señal de la noradrenalina o se agotan las reservas de grasa de la célula.

10.3. AGRESIÓN OXIDATIVA

El oxígeno no es esencial para generar energía; muchos seres vivos (todos ellos procariotas anaerobios) utilizan la glucólisis para cubrir todas sus necesidades energéticas. ¿Por qué utilizan entonces el oxígeno la gran mayoría de los seres vivos para extraer energía de las moléculas orgánicas? Además de las grandes cantidades de energía que se generan utilizando esta sustancia gaseosa, es de fácil disposición y se distribuye fácilmente dentro de los organismos. (El oxígeno difunde rápidamente dentro y fuera de las células ya que es soluble en el centro lipídico apolar de las membranas.) Sin embargo, como se ha mencionado previamente (véase la pág. 299), las ventajas del uso del oxígeno están ligadas a una propiedad peligrosa que posee. El oxígeno puede aceptar electrones para formar derivados inestables, que se denominan **especies de oxígeno reactivas (ROS)**. Entre los ejemplos de las ROS se encuentran el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y el oxígeno singlete. Debido a que las ROS son tan reactivas, cuando se forman en cantidades significativas pueden dañar a las células. En los seres vivos, la formación de ROS suele mantenerse en un mínimo por los mecanismos antioxidantes de defen-

sa. (Los **antioxidantes** son sustancias que inhiben la reacción de moléculas con los radicales de oxígeno. Frecuentemente, los antioxidantes son eficaces debido a que se oxidan más fácilmente que los átomos o moléculas que protegen.)

En determinadas condiciones, que en conjunto se denominan **agresión oxidativa**, los mecanismos antioxidantes se desbordan y puede producirse algún daño. La lesión es consecuencia principalmente de la inactivación enzimática, la despolimerización de polisacáridos, la degradación del DNA y la destrucción de membranas. Entre las circunstancias que pueden producir una lesión oxidativa grave se encuentran determinadas anomalías metabólicas, el consumo excesivo de ciertos fármacos, la exposición a una radiación intensa, o el contacto repetido con determinados contaminantes ambientales (p. ej., el humo del tabaco).



Además de contribuir al proceso de envejecimiento, la lesión oxidativa se ha asociado al menos a 100 enfermedades humanas. Entre ellas el cáncer, las enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, el infarto de miocardio y la hipertensión, y las enfermedades neurológicas, como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA o enfermedad de Lou Gehrig), la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer. Actualmente se sabe que varias clases de células producen cantidades elevadas de ROS. Por ejemplo, en los cuerpos animales los fagocitos, como los macrófagos y los neutrófilos, buscan continuamente microorganismos y células dañadas. En un proceso que consume oxígeno y que se denomina **estallido respiratorio**, se generan las ROS que se utilizan para destruir y desmantelar estas células.

Especies de oxígeno reactivas

Las propiedades del oxígeno están directamente relacionadas con su estructura molecular. La molécula de oxígeno diatómica es un dirradical. Un **radical** es un átomo o grupo de átomos que contiene uno o varios electrones desapareados. El dioxígeno es un dirradical debido a que posee dos electrones desapareados. Por ésta y otras razones, cuando reacciona, el dioxígeno sólo puede aceptar 1 electrón cada vez.

Recuerde que durante el transporte electrónico mitocondrial se forma H_2O como consecuencia de la transferencia secuencial de 4 electrones al O_2. Durante este proceso se forman varias ROS. La citocromo oxidasa (y otras proteínas activadoras del oxígeno) atrapa estos intermediarios reactivos dentro de su lugar activo hasta que se han transferido los 4 electrones al oxígeno. Sin embargo, los electrones pueden escaparse de la ruta de transporte electrónico y reaccionar con el O_2 para formar las ROS (Fig. 10-18).

En circunstancias normales, los mecanismos de defensa antioxidante de la célula hacen mínimo cualquier daño. Las ROS se forman también durante procesos no enzimáticos. Por ejemplo, la exposición a la luz UV y a la radiación ionizante da lugar a la formación de ROS.

La primera ROS que se forma durante la reducción del oxígeno es el radical superóxido $O_2^{\overline{\cdot}}$. La mayoría de los radicales superóxido se producen por electrones que proceden del ciclo Q del complejo III y por la flavoproteína NADH deshidrogenasa (complejo I). El $O_2^{\overline{\cdot}}$ actúa como nucleófilo y, en circunstancias específicas, como oxidante o como reductor. Debido a sus propiedades de solubilidad, el $O_2^{\overline{\cdot}}$ produce un daño considerable a los componentes fosfolipídicos de las membranas. Cuando se genera en un ambiente acuoso, el $O_2^{\overline{\cdot}}$ reacciona consigo mismo para dar lugar a O_2 y peróxido de hidrógeno (H_2O_2):

$$2\ H^+ + 2\ O_2^{\overline{\cdot}} \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

El H_2O_2 no es un radical ya que no tiene electrones desapareados. La reactividad limitada del H_2O_2 le permite cruzar las membranas y dispersarse generalizadamente. La consiguiente reacción del H_2O_2 con el Fe^{2+} (u otros metales de transición) da lugar a la producción del radical hidroxilo (•OH), una especie muy reactiva.

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + \bullet OH + OH^-$$

El radical hidroxilo, que es muy reactivo, sólo difunde a una distancia corta antes de reaccionar con cualquier molécula con la que choque. Los radicales como el radical

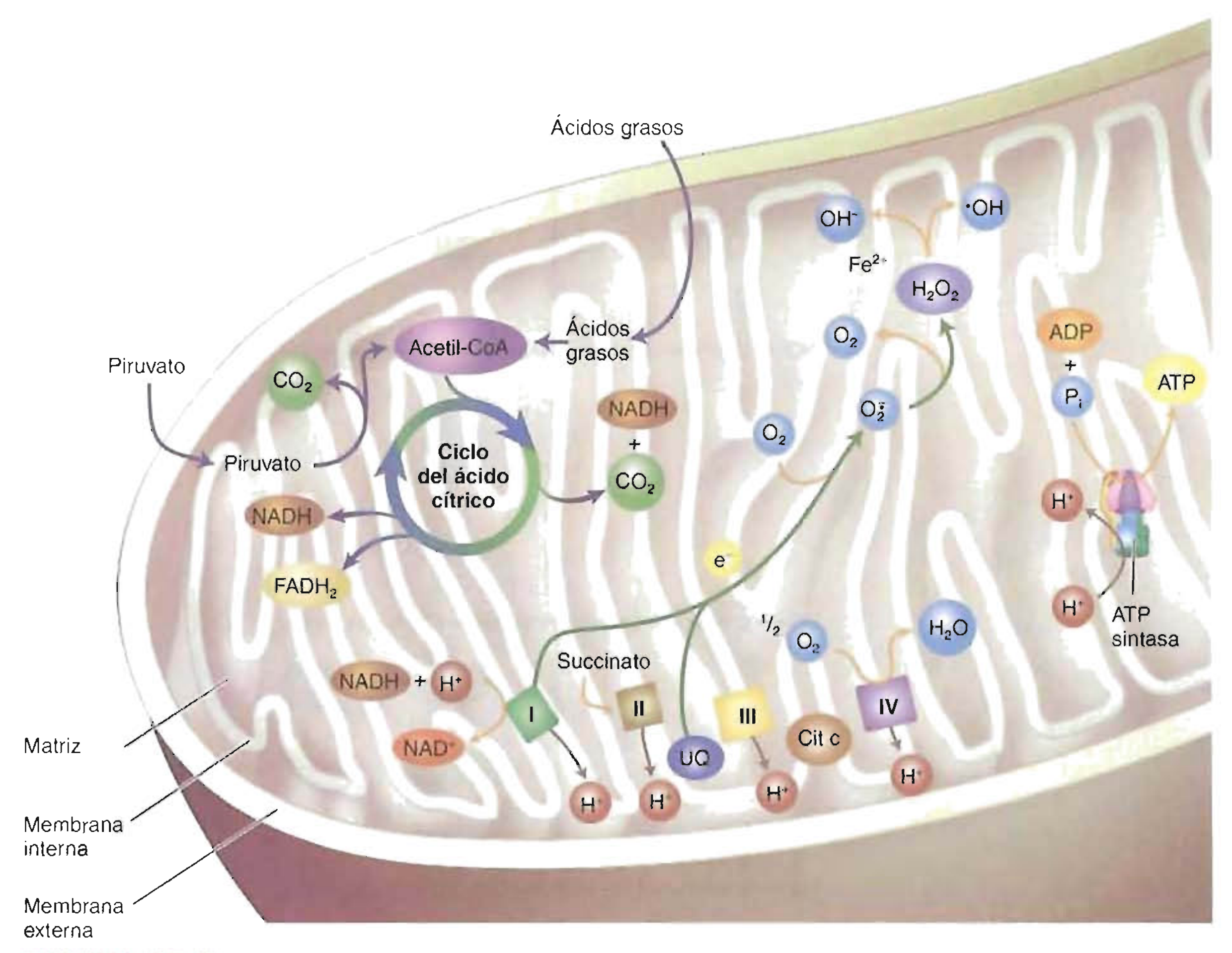


FIGURA 10-8

Visión general de la fosforilación oxidativa y de la formación de ROS en la mitocondria.

La fosforilación oxidativa implica cinco complejos multiproteicos: los complejos I, II, III y IV (componentes principales de la CTE) y la ATP sintasa. El piruvato y los ácidos grasos, las principales moléculas combustibles, se transportan a la mitocondria donde se oxidan por el ciclo del ácido cítrico. Los átomos de hidrógeno que se liberan durante este proceso se transportan a la CTE por el NADH y el $FADH_2$. La energía que se libera por el sistema de transporte electrónico se utiliza para bombear protones desde la matriz al espacio intermembrana. El gradiente electroquímico que se crea por el bombeo de protones se utiliza para sintetizar ATP, al fluir los protones a través de la ATP sintasa. Sin embargo, ningún sistema es perfecto. Los electrones inadvertidamente salen de la CTE y reaccionan con el O_2 para formar superóxido ($O_2^{\bar{\cdot}}$). En presencia de Fe^{2+}, el superóxido se convierte en el radical hidroxilo (•OH). El superóxido se convierte también en peróxido de hidrógeno.

hidroxilo son especialmente peligrosos debido a que pueden iniciar una reacción autocatalítica de radicales en cadena (Fig. 10-19). El oxígeno singlete ($^1O_2$), un estado muy excitado que se crea cuando el dioxígeno absorbe energía suficiente para desviar un electrón desapareado a un orbital superior, puede formarse a partir de un superóxido:

$$2\,O_2^{\bar{\cdot}} + 2\,H^+ \longrightarrow H_2O_2 + {}^1O_2$$

o a partir de peróxidos: $2\,ROOH \longrightarrow 2\,ROH + {}^1O_2$

Debido a que es un potente oxidante, el oxígeno singlete es aún más reactivo que el radical hidroxilo, aunque no es un radical.

Como se ha mencionado (véase la pág. 320), las ROS se generan durante varias actividades celulares, además de la reducción del O_2 para formar H_2O. Entre ellas están la biotransformación de los xenobióticos y el estallido respiratorio (Fig. 10-20) en los leucocitos. Además, los electrones a veces se escapan de las rutas de transporte electrónico del retículo endoplásmico (p. ej., el sistema de transporte electrónico del citocromo P_{450}) para formar superóxido mediante su combinación con el O_2.

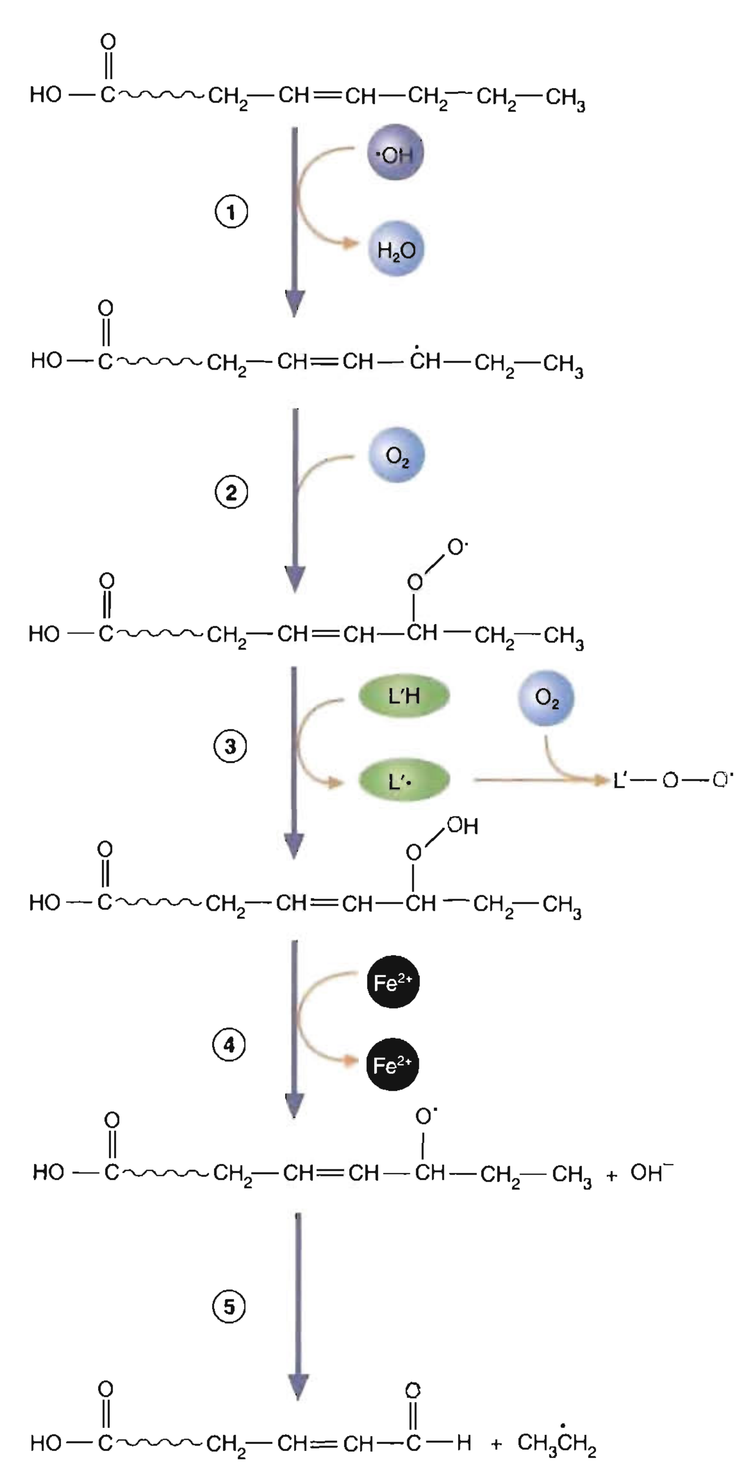


FIGURA 10-19

Reacción de radicales en cadena.

Paso 1: Las reacciones de peroxidación lipídica comienzan tras extraerse un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado (LH → L•). Paso 2: El radical lipídico (L•) reacciona a continuación con el O_2 para formar un radical peroxilo (L• + O_2 → L—O—O•). Paso 3: La reacción de radicales en cadena comienza cuando el radical peroxilo extrae un átomo de hidrógeno de otra molécula de ácido graso (L—O—O• + L'H → L—O—OH + L'•). Paso 4: La presencia de un metal de transición como el Fe^{2+} inicia otra formación de radical (L—O—O—H + Fe^{2+} → LO• + HO^- + Fe^{3+}). Paso 5: Una de las consecuencias más graves de la peroxidación lipídica es la formación de aldehídos, que comporta una reacción de rotura del radical. La reacción en cadena continúa cuando el radical libre producto reacciona a continuación con una molécula cercana.

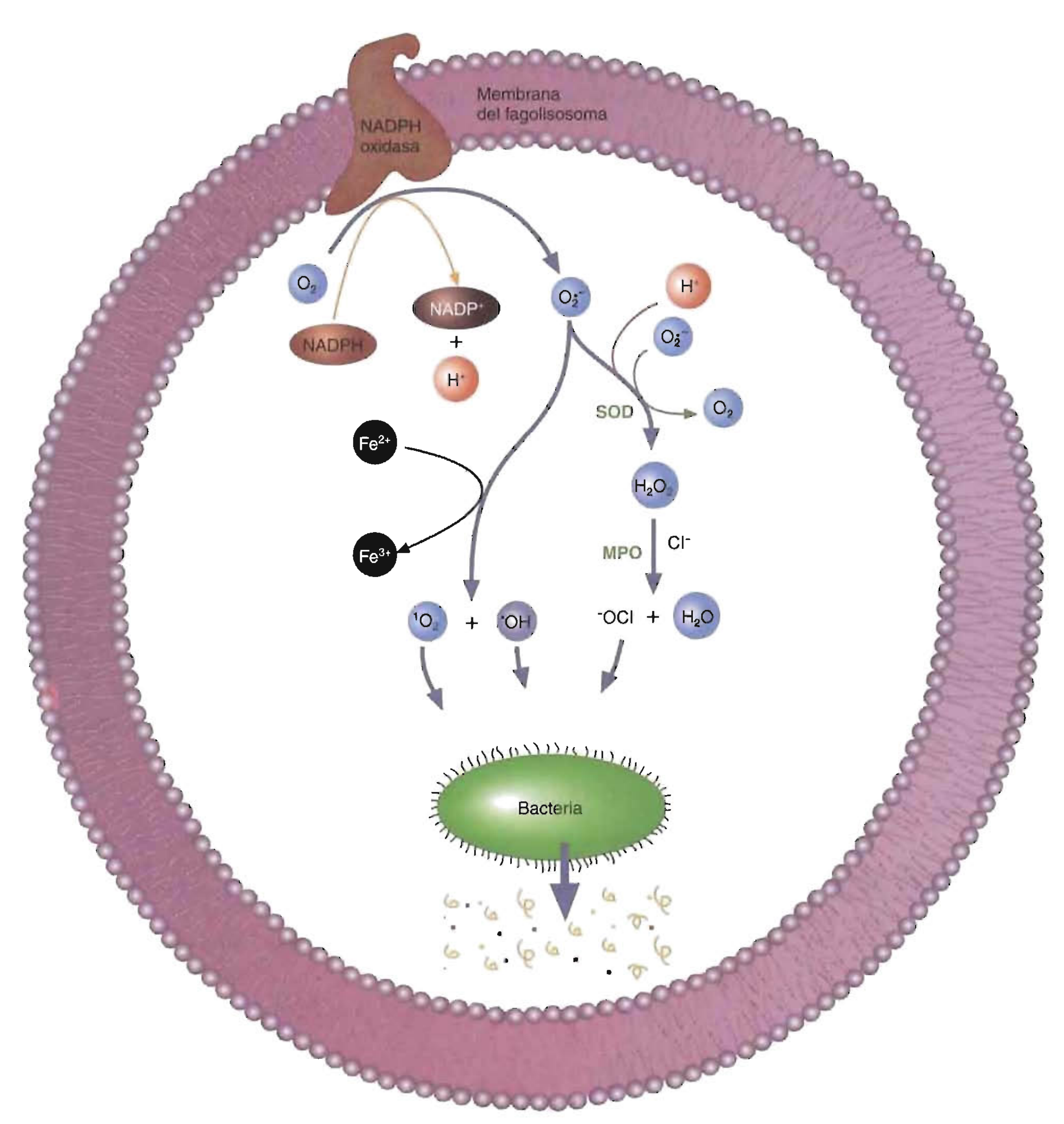


FIGURA 10-20

Estallido respiratorio.

El estallido respiratorio proporciona un ejemplo espectacular del efecto destructivo de las ROS. A los pocos segundos de unirse una célula fagocítica a una bacteria (u otra estructura ajena), su consumo de oxígeno aumenta cerca de 100 veces. Durante la endocitosis, la bacteria se incorpora a una gran vesícula que se denomina fagosoma. Los fagosomas se fusionan con los lisosomas para formar fagolisosomas. Tienen lugar entonces dos procesos destructores: el estallido respiratorio y la digestión por las enzimas lisosómicas. El estallido respiratorio se inicia cuando la NADPH oxidasa convierte el O_2 en O_2^-. Dos moléculas de O_2^- se combinan en una reacción que cataliza la SOD (superóxido dismutasa) para formar H_2O_2. Éste se convierte a continuación en varias clases de moléculas bactericidas por la mieloperoxidasa (MPO), una enzima que se encuentra en abundancia en los fagocitos. Por ejemplo, la MPO cataliza la oxigenación de los iones haluro (p. ej., Cl^-) para formar hipohaluros. El hipoclorito (el ingrediente activo de la lejía casera) es extremadamente bactericida. En presencia de Fe^{2+}, el O_2^- y el H_2O_2 reaccionan para formar $\cdot OH$ y $^1O_2$ (oxígeno singlete), ambos muy reactivos. Tras desintegrarse la célula bacteriana, las enzimas lisosómicas digieren los fragmentos que quedan.

Para protegerse de la agresión oxidativa los seres vivos han elaborado varios mecanismos de defensa antioxidante. Estos mecanismos emplean diversas metaloenzimas y moléculas antioxidantes.

CONCEPTOS CLAVE 10.5

Las ROS se forman debido a que el oxígeno se reduce al aceptar un electrón. La formación de ROS es un producto secundario normal del metabolismo y el resultado de situaciones como la exposición a la radiación.

Sistemas enzimáticos antioxidantes

Las principales defensas antioxidantes contra la agresión oxidativa son la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la catalasa. La extensa distribución de estas actividades enzimáticas subraya el problema siempre presente del daño oxidativo.

Las superóxido dismutasas (SOD) son una clase de enzimas que catalizan la formación de H_2O_2 y O_2 a partir del radical superóxido:

$$2\ O_2^{\bar{\cdot}} + 2\ H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$



Existen dos formas principales de SOD. En el ser humano, la isoenzima Cu-Zn se encuentra en el citoplasma. Una isoenzima que contiene Mn se encuentra en la matriz mitocondrial. La enfermedad de Lou Gehrig, un proceso degenerativo mortal en el que se destruyen las motoneuronas, está producida por una mutación del gen que codifica la isoenzima citosólica Cu-Zn de la SOD.

La glutatión peroxidasa, una enzima que contiene selenio, es un componente clave de un sistema enzimático que es el responsable principal del control de la concentración de peróxidos celulares. Recuerde que esta enzima cataliza la reducción de diversas sustancias por el reductor GSH (Sección 5.2). Además de reducir el H_2O_2 para formar agua, la glutatión peroxidasa transforma los peróxidos orgánicos en alcoholes:

$$2\ GSH + R{-}O{-}O{-}H \longrightarrow G{-}S{-}S{-}G + R{-}OH + H_2O$$

Varias enzimas ancestrales apoyan la función de la glutatión peroxidasa (Fig. 10-21). El GSH se regenera a partir del GSSG por la glutatión reductasa:

$$G{-}S{-}S{-}G + NADPH + H^+ \longrightarrow 2\ GSH + NADP^+$$

CONCEPTOS CLAVE 10.6

Las principales defensas enzimáticas frente a la agresión oxidativa son la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la catalasa. La ruta de las pentosas fosfato produce el agente reductor NADPH.

El NADPH que se requiere en esta reacción lo aportan principalmente varias reacciones de la ruta de las pentosas fosfato (Capítulo 8). Recuerde que el NADPH también se produce en las reacciones que catalizan la isocitrato deshidrogenasa y la enzima málica.

La catalasa es una enzima que contiene hemo que utiliza el H_2O_2 para oxidar otros sustratos:

$$RH_2 + H_2O_2 \longrightarrow R + 2\ H_2O$$

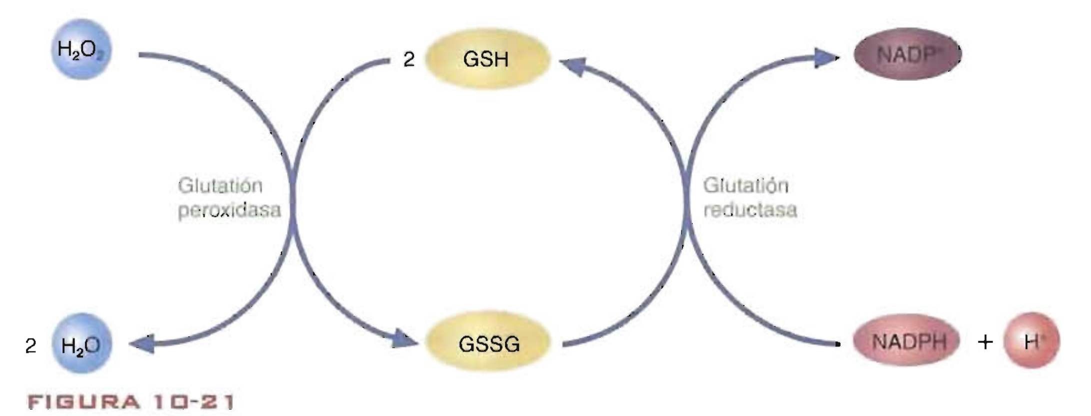


FIGURA 10-21

Ciclo redox del glutatión.

La glutatión peroxidasa utiliza el GSH para reducir los peróxidos generados por el metabolismo aerobio celular. La glutatión reductasa regenera el GSH a partir de su forma oxidada, GSSG. El NADPH, el reductor de esta reacción, lo aportan la ruta de las pentosas fosfato y otras reacciones.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 10.2. Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

Debido a su participación en el transporte de oxígeno, los eritrocitos son especialmente propensos a la agresión oxidativa. Los millones de moléculas de hemoglobina dentro de cada célula son potenciales prooxidantes, es decir, el grupo hemo estimula la producción de ROS. Recuerde que el oxígeno se une al sexto enlace de coordinación del grupo hemo (véase la pág. 145):

$$[Fe^{2+}(hemo)(His)(O_2)]$$

Cuando se hace esto, se forma una estructura intermediaria en la que se deslocaliza un electrón entre el átomo de hierro y el oxígeno:

$$[Fe^{2+}(O_2)] \rightleftharpoons [Fe^{3}(O_2^{\overline{\cdot}})]$$

Algunas veces, la oxihemoglobina se descompone y libera el $O_2^{\overline{\cdot}}$. En condiciones normales, se oxidan simultáneamente un pequeño porcentaje de las moléculas de hemoglobina. Como consecuencia de esto, los eritrocitos se encuentran expuestos constantemente al $O_2^{\overline{\cdot}}$, y ya no puede unir más oxígeno el producto oxidado de la hemoglobina, que se denomina metahemoglobina, con su grupo hemo-Fe^{3+}. Los eritrocitos se hacen frágiles debido a que la peroxidación lipídica producida por el H_2O_2 daña la membrana plasmática de la célula. Cuando una célula de éstas pasa a través de un vaso sanguíneo estrecho, puede romperse. Si la agresión oxidativa es severa, se produce una anemia hemolítica. Afortunadamente, los eritrocitos normalmente están bien protegidos. Poseen concentraciones elevadas de Cu-Zn SOD, catalasa y glutatión peroxidasa, y una ruta de las pentosas fosfato muy activa. El NADPH que se produce en la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato se utiliza para reducir el GSSG a GSH (Fig. 10-21). Sin embargo, los eritrocitos tienen una vulnerabilidad específica a la agresión oxidativa debido a que sólo obtienen el NADPH de la ruta de las pentosas fosfato.

En la *deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*, la capacidad de los eritrocitos para protegerse de la agresión oxidativa está reducida. Las personas afectadas producen cantidades bajas de NADPH debido a que poseen una enzima defectuosa. (Se conocen unas 100 variantes del gen de la G-6-PD y la capacidad para producir NADPH por lo tanto varía mucho entre las personas con deficiencia de G-6-PD). Una cantidad de NADPH menor de lo normal deteriora la capacidad de una persona para generar GSH.

En condiciones normales, muchos portadores del gen mutado son asintomáticos. Sin embargo, cualquier agresión oxidativa puede tener consecuencias graves. Por ejemplo, la administración del antipalúdico primaquina a las personas con deficiencia de G-6-PD da lugar a una anemia hemolítica. El fármaco destruye al parásito del paludismo *Plasmodium* debido a que estimula la producción de peróxido de hidrógeno. La disminución resultante de las concentraciones de NADPH y GSH en los eritrocitos (que ya tenían cantidades menores de las normales) produce la lisis de la membrana de los eritrocitos. Las personas con deficiencia de G-6-PD son resistentes al paludismo. (El *Plasmodium* es especialmente sensible a las condiciones oxidantes, de forma que cualquier circunstancia que disminuya la capacidad antioxidante de la célula inhibe la infección.) Por lo tanto, no es sorprendente que la deficiencia de G-6-PD sea una de las anomalías genéticas más común. En áreas geográficas en las que el paludismo es endémico (p. ej., las regiones Mediterráneas y de Oriente Medio), las personas que poseen la enzima defectuosa tienen menos probabilidad de morir por la enfermedad que las que no la tienen. (Recuerde que el rasgo drepanocítico también proporciona resistencia al paludismo.)

En los peroxisomas se encuentran cantidades abundantes de catalasa. En estos orgánulos se generan grandes cantidades de H_2O_2 como producto secundario en varias reacciones oxidativas:

$$RH_2 + O_2 \longrightarrow R\bullet + H_2O_2$$

Cuando el H_2O_2 se encuentra presente en cantidades excesivas, la catalasa lo convierte en agua:

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$$

PREGUNTA 10.6

Se considera al selenio como un elemento tóxico. (Es el componente activo de la hierba «loco».) Sin embargo, cada vez hay más datos que indican que el selenio también es un oligoelemento esencial. Debido a que la actividad glutatión peroxidasa es esencial para proteger a los eritrocitos frente a la agresión oxidativa, la deficiencia de selenio puede dañar a los eritrocitos. Aunque el azufre es de la misma familia que el selenio, no puede sustituirlo. ¿Puede explicar por qué? (*Pista*: El selenio se oxida con más facilidad que el azufre.) ¿Es el azufre o el selenio un antioxidante mejor para el oxígeno cuando este gas se encuentra en cantidades mínimas?

PREGUNTA 10.7

Se cree que la radiación ionizante lesiona a los tejidos produciendo radicales hidroxilo. Los fármacos que protegen al organismo del daño de las radiaciones normalmente tienen grupos –SH. Desafortunadamente, deben tomarse *antes* de la exposición a la radiación. ¿Cómo protegen estos fármacos de la radiación? ¿Puede sugerir algún tipo de molécula que no contenga un grupo sulfhidrilo y que proteja frente al daño inducido por el radical hidroxilo?

PREGUNTA 10.8

En algunas regiones donde el paludismo es endémico (p. ej., Oriente Medio), las habas son una comida básica. Las habas contienen dos β-glucósidos que se denominan vicina y convicina:

Vicina

Convicina

Se cree que los componente aglucona de estas sustancias, que se denominan divicina e isouramilo, respectivamente, pueden oxidar al GSH. Las personas que comen habas frescas están protegidas en cierta medida del paludismo. Se produce una enfermedad conocida como *favismo* cuando algunas personas con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa presentan una anemia hemolítica grave tras comer habas. Explique el motivo.

Moléculas antioxidantes

Los seres vivos utilizan moléculas antioxidantes para protegerse de los radicales. Algunos antioxidantes destacados son el GSH, el α-tocoferol (vitamina E), el ácido ascórbico (vitamina C) y el β-caroteno (Fig. 10-22).

El **α-tocoferol**, un potente eliminador de radicales, pertenece a una clase de compuestos que se denominan *antioxidantes fenólicos*. Los fenoles son antioxidantes eficaces debido a que los productos radicales de estas moléculas se estabilizan por resonancia y son así relativamente estables:

Fenol + R· → Radical fenólico estabilizado por resonancia + R—H

Debido a que la vitamina E (que se encuentra en los vegetales y los aceites de semillas, los cereales enteros y los vegetales de hoja verde) es liposoluble, desempeña una función importante en la protección de la membrana de los radicales peroxilo lipídicos.

FIGURA 10-22
Moléculas antioxidantes seleccionadas.
(a) α-Tocoferol (vitamina E), (b) ascorbato (vitamina C), y (c) β-caroteno.

(a)

(b)

(c)

El **β-caroteno**, que se encuentra en las frutas amarillo-naranja y verde oscuro, y en los vegetales como las zanahorias, las patatas dulces, el brécol y los albaricoques, es un miembro de una clase de pigmentos vegetales que se denominan *carotenoides*. En los tejidos vegetales los carotenoides absorben parte de la energía luminosa que se utiliza para impulsar la fotosíntesis y los protegen frente a las ROS que se forman a intensidades luminosas elevadas. En los animales, el β-caroteno es precursor del retinol (vitamina A) y un antioxidante importante de las membranas. (El retinol es precursor del retinal, el pigmento que absorbe luz en los bastones de la retina.)

CONCEPTOS CLAVE 10.7

Las moléculas antioxidantes protegen a los componentes celulares del daño oxidativo. Los antioxidantes más destacados son el GSH y los componentes de la alimentación α-tocoferol, β-caroteno y ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es un antioxidante eficaz. Presente fundamentalmente como ascorbato, esta molécula hidrosoluble elimina varias ROS dentro de los compartimientos acuosos de las células y en los líquidos extracelulares. El ascorbato se oxida reversiblemente de la forma:

$$\text{L-Ascorbato} \underset{+H^+,\ +e^-}{\overset{-H^+,\ -e^-}{\rightleftharpoons}} \text{Radical L-ascorbilo} \underset{+e^-}{\overset{-e^-}{\rightleftharpoons}} \text{Ácido deshidro-L-ascórbico}$$

El ascorbato protege a las membranas mediante dos mecanismos. En primer lugar, el ascorbato reacciona con los radicales peroxilo que se forman en el citoplasma antes de que puedan alcanzar la membrana, evitando de esta manera la peroxidación lipídica. En segundo lugar, el ascorbato potencia la actividad antioxidante de la vitamina E regenerando el α-tocoferol a partir del radical α-tocoferilo (Fig. 10-23). Luego se regenera el ascorbato por su reacción con el GSH.

FIGURA 10-23
Regeneración del α-tocoferol por el L-ascorbato.
El L-ascorbato, una molécula hidrosoluble, protege a las membranas del daño oxidativo regenerando el α-tocoferol a partir del radical α-tocoferilo. El radical ascorbilo que se forma en este proceso se reconvierte en L-ascorbato durante una reacción con GSH.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 10.3. Isquemia y reperfusión

La lesión tisular que se produce durante un infarto de miocardio o un accidente cerebrovascular está producida por la *isquemia*, un proceso en el que existe un flujo sanguíneo inadecuado. Los infartos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares normalmente se producen por la aterosclerosis que conlleva la formación de un coágulo sanguíneo en una arteria esencial. (En la aterosclerosis se forman en los revestimientos de los vasos sanguíneos masas blandas de materia grasa que se denominan *placas*.) Al contrario que el músculo esquelético, que es muy resistente a las lesiones isquémicas, el corazón y el cerebro son muy sensibles a los procesos hipóxicos (oxígeno bajo). Por ejemplo, se produce una lesión cerebral significativa si se le priva al cerebeloso de oxígeno durante más de unos minutos. La estimulación de la glucólisis anaerobia, que conduce a la producción de lactato y a acidosis, es la primera respuesta de las células a la isquemia. Debido a que la producción de energía por la glucólisis es ineficaz, la concentración de ATP comienza a descender. Al hacerlo, los nucleótidos de adenina se degradan para formar hipoxantina (Capítulo 15). Sin una cantidad suficiente de ATP, las células no pueden mantener una concentración iónica intracelular adecuada. Por ejemplo, aumenta la concentración de calcio citoplásmico. Una de las consecuencias de esta circunstancia es la activación de las enzimas que dependen del calcio, como las proteasas y las fosfolipasas (enzimas que degradan los fosfolípidos de las membranas). Al aumentar la presión osmótica, las células afectadas se hinchan y pierden su contenido. (Recuerde que la pérdida a la sangre de enzimas específicas se utiliza para diagnosticar las lesiones cardíaca y hepática (Recuadro de Interés Especial 6.1.) El aporte sanguíneo se reduce aún más al taponar los vasos sanguíneos los neutrófilos atraídos hacia el lugar dañado por quimiotaxia. Finalmente, comienzan a salir de los lisosomas las enzimas lisosómicas. Debido a que las enzimas lisosómicas sólo son activas a valores de pH bajos, su presencia en un citoplasma cada vez más ácido conduce en última instancia a la hidrólisis de los componentes celulares. Si no se restablece el aporte de oxígeno, las células afectadas pueden dañarse de forma irreversible.

La reoxigenación de un tejido isquémico, un proceso que se denomina *reperfusión*, puede ser un tratamiento que salve la vida. Por ejemplo, utilizando estreptoquinasa para eliminar los coágulos que ocluyen las arterias en los pacientes con infarto de miocardio, acompañado por la administración de oxígeno, ha sido una estrategia con mucho éxito para salvar vidas. Sin embargo, dependiendo de la duración del episodio hipóxico, la reintroducción del oxígeno al tejido isquémico puede dar lugar a un daño mayor. La investigación más reciente con antioxidantes ha descubierto que las ROS son, en gran medida, responsables de la lesión celular iniciada por la reperfusión. No está aún claro cuál es el mecanismo por el que la reperfusión da lugar a la producción de ROS. Sin embargo, existen varias posibilidades probables. Por ejemplo, la pérdida de electrones por las mitocondrias hinchadas puede dar lugar a la formación de ROS. Además, la liberación de hierro de los componentes celulares como la mioglobina, que puede ocasionar el daño producido por las ROS, puede dar lugar a una mayor producción de •OH. Otra lesión producida por la reperfusión se debe a la conversión de la hipoxantina en ácido úrico, que comporta la formación de $O_2^{\bar{\cdot}}$ y •OH, y la síntesis de ROS en los neutrófilos. Finalmente, la acidosis producida por la acumulación de lactato en las células musculares cardíacas afectadas descarga cantidades anormalmente elevadas de oxígeno de la hemoglobina. Esta última alteración facilita mucho el aumento de la síntesis de las ROS. Actualmente se está investigando con moléculas antioxidantes que neutralicen las ROS para utilizarlas en los tratamientos médicos. Entre ellas se encuentran el α-tocoferol y el manitol (el azúcar alcohol derivado de la manosa).

PREGUNTA 10.9

El BHT (hidroxitolueno butilado) es un antioxidante que se emplea mucho como conservante alimentario. La quercitina es un ejemplo de un gran grupo de potentes antioxidantes que se denominan flavonoides y que se encuentran en las frutas y los vegetales.

CH3
C
CH3
CH3
H3C
OH
CH3
C
CH3
CH3
BHT

HO
O
OH
HO
HO
O
OH
Quercitina

¿Qué característica estructural de estas moléculas es responsable de sus propiedades antioxidantes?

RESUMEN

1. El dioxígeno (O_2), que suele denominarse oxígeno, lo utilizan los organismos aerobios como aceptor electrónico terminal en la generación de energía. Varias propiedades físicas y químicas del oxígeno lo hacen adecuado para esta función. Además de su fácil disponibilidad (se encuentra prácticamente en todas partes sobre la superficie de la Tierra), el oxígeno difunde fácilmente a través de las membranas celulares y es muy reactivo, de forma que acepta electrones con facilidad.
2. Las moléculas de NADH y $FADH_2$ que se producen en la glucólisis, la ruta de β-oxidación y el ciclo del ácido cítrico, generan

energía utilizable en la ruta de transporte electrónico. La ruta está formada por un conjunto de transportadores redox que reciben los electrones del NADH y el $FADH_2$. Al final de la ruta, los electrones, junto con los protones, se ceden al oxígeno para formar H_2O.

3. Durante la oxidación del NADH hay tres pasos en los que la energía que se pierde es suficiente para producir la síntesis de ATP Estos pasos, que tienen lugar dentro de los complejos I, III y IV, se denominan lugares I, II y III, respectivamente.
4. La fosforilación oxidativa es el mecanismo por medio del cual el transporte electrónico se acopla a la síntesis de ATP. De acuerdo con la teoría quimiosmótica, la creación de un gradiente de protones que acompaña al transporte electrónico está acoplado a la síntesis de ATP.
5. La oxidación total de una molécula de glucosa da lugar a la síntesis de 29.5 a 31 moléculas de ATP, dependiendo de si la lanzadera del glicerol fosfato o la lanzadera malato-aspartato transfieren los electrones del NADH citoplásmico a la CTE mitocondrial.
6. La utilización del oxígeno por los organismos aerobios está unida a la producción de ROS. Éstas se forman debido a que la molécula de oxígeno dirradical acepta electrones de uno en uno. Entre las ROS se encuentran el radical superóxido, el radical hidroxilo y el oxígeno singlete. El peligro de las ROS muy reactivas se hace mínimo por los mecanismos de defensa antioxidante de la célula.

LECTURAS RECOMENDADAS

Beal, M. F., Oxidative Metabolism, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 924:164-169, 2000.

Chans, S. I., and Li, P. M., Cytochrome Oxidase: Understanding Nature's Desing of a Proton Pump, *Biochem*, 29(1):1-12, 1990.

Hinkle, P. C., Kumar, A., Resetar, A., and Harris, D. L., Mechanistic Stoichiometry of Mitochondrial Oxidative Phosphorylation, *Biochem*, 30:3576-3582, 1991

Hinkle, P C., and McCarty, R. E., How Cells Make ATP, *Sci. Amer.*, 238(3):104-123, 1978.

Junge, W., Lill, H., and Engelbrecht, S., ATP Synthase: An Electrochemical Transducer with Rotatory Mechanics, *Trends Biochem. Sci.*, 22(11):420-423, 1997.

Mitchell, P., Keilin's Respiratory Chain Concept and Its Chemiosmotic Consecuences, *Science*, 206:1148-1159, 1979.

Nicholls, D. G., and Ferguson, S. J., *Bioenergetics 2*, Academic Press, London, 1992.

Nichlls, D. G. and Rial, E., A History of the First Uncompling Protein, UCP1, *J Bioenerg. Bionembr*, 31(5):399-406, 1999.

Nicholls, D. G., y Rial, E., A History of the First Uncoupling Protein, UCP1, *J. Bioenerg. Biomember*, 31(5):399-406, 1999.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G., Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, *Trends Plant Sci.*, 2(4):152-159, 1997.

Sies, H., (Ed) *Oxidative Stress*, Academic Press, London, 1985.

Stock, D., Gibbons, C., Arechaga, I., Leslie, A. G., and Walker, J. E., The Rotary Mechanism of ATP Synthase, *Curr Opin. Struc. Biol.*, 10(6): 672-679, 2000.

PALABRAS CLAVE

β-caroteno, *327*
α-tocoferol, *326*
agresión oxidativa, *320*
antioxidante, *320*
biotransformación, *309*
control respiratorio, *315*
desacoplador, *310*
especies de oxígeno reactivas (ROS), *319*
estallido respiratorio, *320*
fosforilación oxidativa, *307*
fuerza protón motriz, *307*
ionóforo, *310*
lanzadera del glicerol fosfato, *316*
lanzadera del malato-aspartato, *317*
proteína desacopladora, *319*
radical, *320*
respiración aerobia, *300*
teoría del acoplamiento quimiosmótico, *307*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina los siguientes términos:
   a. hipótesis del acoplamiento químico
   b. teoría del acoplamiento quimiosmótico
   c. ionóforo
   d. control respiratorio
   e. isquemia
   f. respiración aerobia
   g. radical
   h. biotransformación
   i. epóxido
   j. fuerza protón motriz
   k. gradiente de protones
   l. desacoplador
   m. ROS
2. ¿Cuáles son las fuentes principales de electrones para la ruta de transporte electrónico?
3. Describa los procesos que se cree que están impulsados por el transporte electrónico mitocondrial.
4. Describa las características principales de la teoría quimiosmótica.
5. La hipótesis del acoplamiento químico no podía explicar por qué debía estar intacta la membrana mitocondrial durante la síntesis de ATP. ¿Cómo explica la teoría quimiosmótica este fenómeno?
6. ¿Cómo inhibe el nitrofenol la síntesis de ATP?
7. Se requieren cuatro protones para impulsar la fosforilación del ADP. Explique la función de cada protón en este proceso.
8. Dé varias razones por las que se utiliza tanto el oxígeno en la producción de energía.
9. ¿Cuáles de las siguientes son especies del oxígeno reactivas? ¿Por qué son peligrosas las ROS?
   a. O_2
   b. OH^-

c. RO•
d. O_2^-
e. CH_3OH
f. $^1O_2$

10. Describa los tipos de daño celular producido por las ROS.
11. Describa las actividades enzimáticas que utilizan las células para protegerse del daño oxidativo.
12. Explique cómo un defecto del gen de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa puede proporcionar una ventaja de supervivencia.

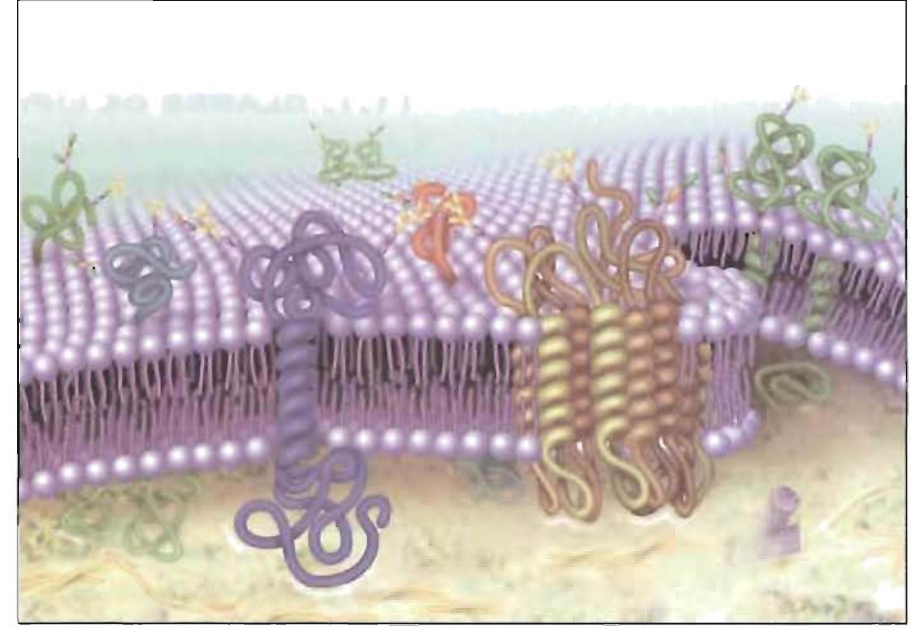
PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Se alimenta con $^{14}CH_3$—COOH a microorganismos durante un experimento. Siga al marcaje ^{14}C a través del ciclo del ácido cítrico. ¿Cuántas moléculas de ATP pueden generarse a partir de 1 mol de esta sustancia? (La conversión de acetato en acetil-CoA requiere el consumo de 2 ATP.)
2. El etanol se oxida en el hígado para formar acetato, que se convierte en acetil-CoA. Determine cuántas moléculas de ATP se producen a partir de 1 mol de etanol. Tenga en cuenta que se producen 2 moles de NADH cuando se oxida el etanol para formar acetato.
3. La glutamina se degrada para formar NH_4^+, CO_2 y H_2O. ¿Cuántos ATP pueden generarse a partir de 1 mol de este aminoácido?
4. El consumo de dinitrofenol por los animales da lugar a un aumento inmediato de la temperatura corporal. Explique este fenómeno. ¿Por qué esta práctica es una idea muy mala?

CAPÍTULO ONCE

Lípidos y membranas

SUMARIO



Membrana biológica. Una membrana biológica es un barrera dinámica entre compartimientos que está formada por una bicapa lipídica que forma complejos de forma no covalente con proteínas, glucoproteínas, glucolípidos y colesterol.

Los lípidos son sustancias naturales que se disuelven en hidrocarburos pero no en agua. Realizan un conjunto impresionante de funciones en los seres vivos. Algunos lípidos son reservas energéticas vitales. Otros son los componentes estructurales primarios de las membranas biológicas. Asimismo, otras moléculas lipídicas actúan como hormonas, antioxidantes, pigmentos o factores de crecimiento vitales y vitaminas. En este capítulo se describen las estructuras y las propiedades de las principales clases de lípidos que se encuentran en los seres vivos.

Los lípidos son un grupo heterogéneo de biomoléculas. Se consideran lípidos moléculas como las grasas y los aceites, los fosfolípidos, los esteroides y los carotenoides, que se diferencian mucho en estructura y función. A causa de su diversidad, el término lípido tiene una definición más operativa que estructural. Los lípidos se definen como aquellas sustancias de los seres vivos que se disuelven en disolventes apolares como el éter, el cloroformo y la acetona, y que no lo hacen apreciablemente en el agua. Las funciones de los lípidos también son variadas. Diversas clases de moléculas lipídicas (p. ej., fosfolípidos y esfingolípidos) son componentes estructurales importantes de las membranas celulares. Otras clases de grasas y aceites (ambas son triacilgliceroles), almacenan energía de forma eficaz. Otras clases de moléculas lipídicas son señales químicas, vitaminas o pigmentos. Finalmente, algunas moléculas lipídicas que se encuentran en las cubiertas externas de varios organismos tienen funciones protectoras o impermeabilizantes.

En el Capítulo 11 se describen la estructura y función de cada clase principal de lípido. Se consideran también las lipoproteínas, los complejos de lípidos, y las proteínas que transportan los lípidos en los animales. El Capítulo 11 finaliza con una visión general de la estructura y función de la membrana. En el Capítulo 12 se describe el metabolismo de varios lípidos importantes.

11.1. CLASES DE LÍPIDOS

Los lípidos pueden clasificarse de muchas formas diferentes. En esta exposición, los lípidos pueden subdividirse en las siguientes clases:

1. Ácidos grasos y derivados.
2. Triacilgliceroles.
3. Ceras.
4. Fosfolípidos (fosfoglicéridos y esfingomielinas).
5. Esfingolípidos (moléculas diferentes a la esfingomielina que contienen el aminoalcohol esfingosina).
6. Isoprenoides (moléculas formadas por unidades repetidas de isopreno, un hidrocarburo ramificado de cinco carbonos).

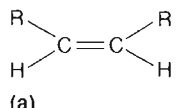
A continuación se considera cada una de estas clases.

Ácidos grasos y derivados

Como se ha descrito previamente (véase la pág. 13), los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos que contienen típicamente cadenas hidrocarbonadas de longitudes variables (entre 12 y 20 carbonos). En el Cuadro 11-1 se dan las estructuras y los nombres de varios ácidos grasos comunes. Los ácidos grasos son componentes importantes de varias clases de moléculas lipídicas. Se encuentran principalmente en los triacilgliceroles y varias clases de moléculas lipídicas unidas a las membranas.

La mayor parte de los ácidos grasos naturales posee un número par de átomos de carbono que forman una cadena sin ramificar. (En algunas especies se encuentran ácidos grasos poco habituales con cadenas ramificadas o con anillos.) Las cadenas de los ácidos grasos que sólo contienen enlaces sencillos carbono-carbono se denominan *saturadas*, mientras que las moléculas que contienen uno o varios dobles enlaces se denominan *insaturadas*. Dado que los dobles enlaces son estructuras rígidas, las moléculas que los contienen pueden presentarse en dos formas isómeras: *cis* y *trans*. En los **isómeros *cis***, los grupos semejantes o idénticos se encuentran en el mismo lado de un doble enlace (Fig. 11-1a). Cuando estos grupos se encuentran en los lados opuestos de un doble enlace, se dice que la molécula es un **isómero *trans*** (Fig. 11-1b).

En la mayoría de los ácidos grasos naturales, los dobles enlaces se encuentran en configuración *cis*. La presencia de un doble enlace *cis* produce un «retorcimiento» inflexible en una cadena de ácido graso (Fig. 11-2). Debido a esta característica estructural, los ácidos grasos insaturados no se colocan tan juntos como los ácidos grasos saturados. Se requiere menos energía para romper las fuerzas intermoleculares entre los ácidos grasos insaturados. Por lo tanto, poseen menores puntos de fusión y a tem-



(a)

R H
C=C
H R

(b)

FIGURA 11-1

Formas isómeras de moléculas insaturadas.

En los isómeros *cis* (a) ambos grupos R están en el mismo lado del doble enlace carbono-carbono. Los isómeros *trans* (b) tienen los grupos R en lados diferentes.

CUADRO 11-1
Ejemplos de ácidos grasos

Nombre común	Estructura	Abreviatura
Ácidos grasos saturados		
Ácido mirístico	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	14:0
Ácido palmítico	$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2COOH$	16:0
Ácido esteárico	$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$	18:0
Ácido araquídico	$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$	20:0
Ácido lignocérico	$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$	24:0
Ácido cerótico	$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$	26:0
Ácidos grasos insaturados		
Ácido palmitoleico	$CH_3(CH_2)_5\overset{H}{C}=\overset{H}{C}(CH_2)_7COOH$	$16{:}1^{\Delta 9}$
Ácido oleico	$CH_3(CH_2)_7\overset{H}{C}=\overset{H}{C}(CH_2)_7COOH$	$18{:}1^{\Delta 9}$
Ácido linoleico	$CH_3(CH_2)_4\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-CH_2-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}(CH_2)_7COOH$	$18{:}2^{\Delta 9,12}$
Ácido α-linolénico	$CH_3CH_2\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-CH_2-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-CH_2-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}(CH_2)_7COOH$	$18{:}3^{\Delta 9,12,15}$
Ácido araquidónico	$CH_3(CH_2)_3-\left(CH_2-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}\right)_4-(CH_2)_3COOH$	$20{:}4^{\Delta 5,8,11,14}$

peratura ambiente son líquidos. Por ejemplo, una muestra de ácido palmítico (16:0), un ácido graso saturado, funde a 63 °C, mientras que el ácido palmitoleico ($16{:}1^{\Delta 9}$) funde a 0 °C. (En las abreviaturas de los ácidos grasos, el número a la izquierda de los dos puntos es el número total de átomos de carbono, y el número a la derecha el número de dobles enlaces. Un superíndice indica la colocación de un doble enlace. Por ejemplo, Δ9 significa que hay ocho carbonos entre el grupo carboxilo y el doble enlace, es decir, el doble enlace se encuentra entre los carbonos 9 y 10.) Sorprendentemente, los ácidos grasos con dobles enlaces *trans* tienen estructuras tridimensionales semejantes a las de los ácidos grasos insaturados. Debe señalarse también que la presencia de uno o varios dobles enlaces en un ácido graso lo hace susceptible al ataque oxidativo (Fig. 10-19). Entre las consecuencias de este fenómeno se encuentran los efectos de la agresión oxidativa sobre las membranas celulares (Recuadro de Interés Especial 10.2) y la tendencia de los aceites a enranciarse (véase la pág. 322).

Los ácidos grasos con un doble enlace se denominan moléculas **monoinsaturadas**. Cuando hay dos o más dobles enlaces en los ácidos grasos, normalmente separados por grupos metileno ($-CH_2-$), se denominan **poliinsaturados**. El ácido graso monoinsaturado ácido oleico ($18{:}1^{\Delta 9}$) y el poliinsaturado ácido linoleico ($18{:}2^{\Delta 9,12}$) se encuentran entre los ácidos grasos más abundantes de los seres vivos.

Los organismos como los vegetales y las bacterias pueden sintetizar todos los ácidos grasos que requieren a partir de acetil-CoA (Capítulo 10). Los mamíferos obtienen la mayoría de sus ácidos grasos de la alimentación. Sin embargo, estos organismos pueden sintetizar los ácidos grasos saturados y algunos ácidos grasos insaturados. También pueden modificar algunos ácidos grasos de la alimentación añadiendo unidades de dos carbonos e introduciendo algunos dobles enlaces. Los ácidos grasos que se pueden sintetizar se denominan **ácidos grasos no esenciales**. Debido a que los mamíferos no poseen las enzimas que se requieren para sintetizar los ácidos linoleico ($18{:}2^{\Delta 9,12}$) y linolénico ($18{:}2^{\Delta 9,12,15}$), estos **ácidos grasos esen-**

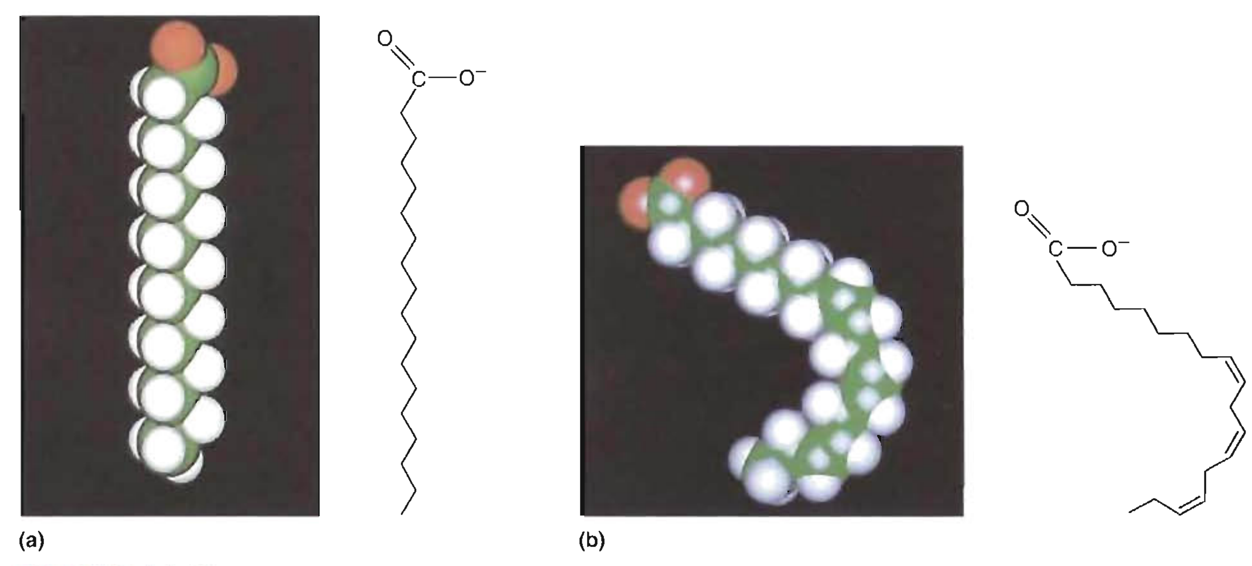


FIGURA 11-2

Modelos de relleno espacial y conformacionales.

(a) Un ácido graso saturado (ácido esteárico), y (b) un ácido graso insaturado (ácido α-linolénico). (Esferas verdes = átomos de carbono; esferas blancas = átomos de hidrógeno; esferas rojas = átomos de oxígeno.)

ciales deben obtenerse del alimento. Las fuentes más abundantes de los ácidos grasos esenciales, que tienen varias funciones fisiológicas fundamentales, son algunos aceites vegetales, las nueces y las semillas. Además de contribuir a la estructura adecuada de la membrana, los ácidos linoleico y linolénico son precursores de varios metabolitos importantes. Los ejemplos más estudiados de derivados de los ácidos grasos son los eicosanoides (Recuadro de Interés Especial 11.1). La dermatitis (piel escamosa) es un síntoma precoz en las personas con una alimentación con pocas grasas, y por lo tanto con carencia de ácidos grasos esenciales. Otros signos de esta deficiencia son una mala cicatrización de las heridas, una disminución de la resistencia a las infecciones, alopecia (pérdida de pelo) y trombocitopenia (reducción del número de plaquetas, el componente de la sangre que participa en el proceso de coagulación).

Los ácidos grasos poseen varias propiedades químicas importantes. Las reacciones que experimentan son típicas de los ácidos carboxílicos de cadena corta. Por ejemplo, los ácidos grasos reaccionan con los alcoholes para formar ésteres:

$$R-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-OH + R'-OH \rightleftharpoons R-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-O-R' + H_2O$$

Esta reacción es reversible; es decir, en condiciones adecuadas un éster de ácido graso puede reaccionar con el agua para dar un ácido graso y un alcohol. Los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces pueden experimentar reacciones de hidrogenación para formar ácidos grasos saturados. Finalmente, los ácidos grasos insaturados son susceptibles al ataque oxidativo. (Esta característica de los ácidos grasos se describe en el Capítulo 12.)

Determinados ácidos grasos (principalmente los ácidos grasos mirístico y palmítico) están unidos covalentemente a una gran variedad de proteínas eucariotas. Estas proteínas se denominan proteínas *aciladas*. Los grupos ácido graso (denominados **grupos acilo**) facilitan de forma clara las interacciones entre las proteínas de la membrana y sus entornos hidrófobos. Los ácidos grasos se transportan desde las células grasas a las células del cuerpo esterificadas con proteínas del suero y entran en las células mediante reacciones de transferencia de acilo. Algunas de las proteínas aciladas de las células son representativas de este proceso de transferencia. Sin embargo, aún no se conocen bien otros muchos aspectos de la acilación de proteínas.

$$H{-}\overset{\overset{\large H}{|}}{C}{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}(CH_2)_{16}{-}CH_3$$
$$H{-}\overset{|}{C}{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}(CH_2)_7{-}CH{=}CH{-}(CH_2)_7{-}CH_3$$
$$H{-}\underset{\underset{\large H}{|}}{\overset{|}{C}}{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}(CH_2)_{14}{-}CH_3$$

FIGURA 11-3

Triacilglicerol

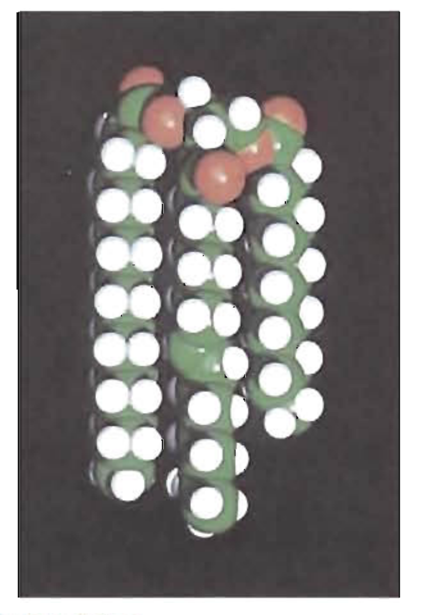
Cada molécula de triacilglicerol está formada por glicerol esterificado con tres ácidos grasos (normalmente diferentes).

Triacilgliceroles

Los triacilgliceroles son ésteres de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos (Fig. 11-3). (Los glicéridos con uno o dos grupos ácido graso, que se denominan monoacilgliceroles y diacilgliceroles, respectivamente, son intermediarios metabólicos. Se encuentran presentes normalmente en cantidades pequeñas.) Debido a que los triacilgliceroles no tienen carga (es decir, el grupo carboxilo de cada ácido graso está unido al glicerol mediante un enlace covalente), se les suele denominar **grasas neutras**. La mayoría de las moléculas de triacilgliceroles contienen ácidos grasos de diversas longitudes, que pueden ser insaturados, saturados o una combinación de ambos (Fig. 11-4). Dependiendo de sus composiciones de ácidos grasos, las mezclas de triacilgliceroles se denominan grasas o aceites. Las *grasas*, que son sólidas a temperatura ambiente, contienen una gran proporción de ácidos grasos saturados. Los *aceites* son líquidos a temperatura ambiente debido a su contenido relativamente elevado de ácidos grasos insaturados. Recuerde (véanse las págs. 332-333) que los ácidos grasos insaturados no se sitúan tan juntos como los ácidos grasos saturados.

CONCEPTOS CLAVE 11.1

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos, que se encuentran en su mayoría en las moléculas de los triacilgliceroles, en diversas clases de moléculas lipídicas unidas a la membrana o en proteínas aciladas de membrana.



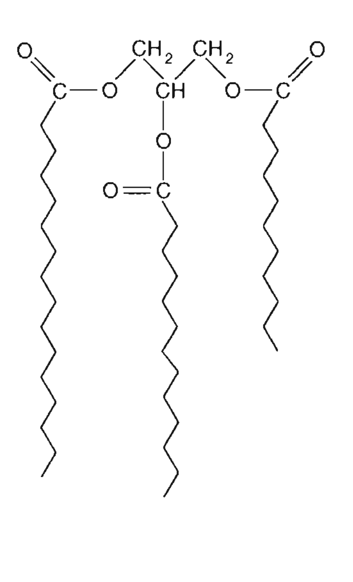


FIGURA 11-4

Modelos de relleno espacial y conformacional de un triacilglicerol.

Los triacilgliceroles son moléculas muy reducidas que sirven como fuentes abundantes de energía química de enlace.

En los animales, los triacilgliceroles (que normalmente se denominan *grasas*) tienen varias funciones. La primera es que son la principal forma de almacenamiento y transporte de los ácidos grasos. Las moléculas de triacilgliceroles almacenan la energía de manera más eficaz que el glucógeno por varias razones:

1. Debido a que los triacilgliceroles son hidrófobos, se fusionan en gotitas compactas anhidras dentro de las células. Los triacilgliceroles se almacenan en una clase especializada de células que se denominan *adipocitos*, presentes en el tejido adiposo. Debido a que el glucógeno (la otra molécula importante que almacena energía) une una cantidad sustancial de agua, los triacilgliceroles anhidros almacenan una cantidad equivalente de energía en una octava parte del volumen del glucógeno.
2. Las moléculas de triacilgliceroles se oxidan menos que las moléculas de hidratos de carbono. Por lo tanto, cuando se degradan, los tracilgliceroles liberan más energía (38.9 kJ/g de las grasas en comparación con 17.2 kJ/g de los hidratos de carbono).

CONCEPTOS CLAVE 11.2

Los triacilgliceroles son moléculas formadas por glicerol esterificado con tres ácidos grasos. En los animales y los vegetales son una fuente abundante de energía.

Una segunda función importante de la grasa es la de proporcionar aislamiento para las bajas temperaturas. La grasa es un mal conductor del calor. Debido a que el tejido adiposo, con su contenido elevado de triacilgliceroles, se encuentra por todo el cuerpo (especialmente debajo de la piel), impide la pérdida de calor. Finalmente, en algunos animales las moléculas de grasa que se segregan por glándulas especializadas hacen que la piel o las plumas repelan el agua.

En los vegetales, los triacilgliceroles constituyen una reserva de energía importante en las frutas y las semillas. Debido a que estas moléculas contienen cantidades relativamente grandes de ácidos grasos insaturados (p. ej., oleico y linoleico), se les denomina aceites vegetales. Las semillas con aceites abundantes son los cacahuetes, el maiz, la palma, el cártamo y la soja. Los aguacates y las aceitunas son frutas con un contenido elevado de aceite.

PREGUNTA 11.1

Los aceites pueden convertirse en grasas mediante un proceso comercial catalizado por el níquel que se denomina *hidrogenación parcial*. En condiciones relativamente suaves (180 °C y presiones de unas 1013 torr o 1.33 atm) se hidrogenan un número suficiente de dobles enlaces y solidifican los aceites líquidos. Este material sólido, oleomargarina, tiene una consistencia semejante a la de la mantequilla. Proponga una razón práctica por la que los aceites no se hidrogenan completamente durante los procesos comerciales de hidrogenación.

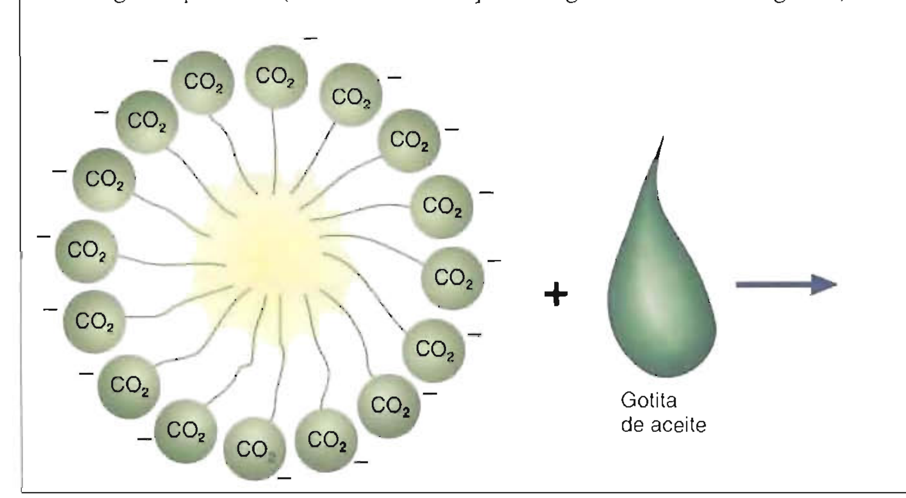
PREGUNTA 11.2

La fabricación de jabón es un proceso antiguo. Los fenicios, un pueblo navegante que dominó el comercio en el mar Mediterráneo hace unos 3000 años, se cree que fueron los primeros que fabricaron jabón. Tradicionalmente, el jabón se ha fabricado calentando la grasa animal con potasa. (La potasa es una mezcla de hidróxido potásico (KOH) y carbonato potásico (K_2CO_3) que se obtiene mezclando cenizas de madera con agua.) Actualmente, el jabón se fabrica calentando sebo de vaca o aceite de coco con hidróxido sódico o potásico. Durante esta reacción, que es una *saponificación* (la inversa de la esterificación), las moléculas de triacilgliceroles se hidrolizan para dar glicerol y las sales sódicas o potásicas de los ácidos grasos:

$$
\begin{array}{l} CH_2-O-C(=O)-R \\ | \\ CH-O-C(=O)-R' \\ | \\ CH_2-O-C(=O)-R'' \end{array}
+ 3\,NaOH \longrightarrow
\begin{array}{c} Na^+\ {}^-O-C(=O)-R \\ + \\ Na^+\ {}^-O-C(=O)-R' \\ + \\ Na^+\ {}^-O-C(=O)-R'' \end{array}
+
\begin{array}{l} CH_2-OH \\ | \\ CH-OH \\ | \\ CH_2-OH \end{array}
$$

Triacilglicerol **Jabón** **Glicerol**

Las sales de los ácidos grasos (jabones) son molécula anfipáticas, es decir, poseen dominios polares y apolares, que espontáneamente forman micelas (Fig. 3-11). Las micelas de jabón tienen superficies con carga negativa que se repelen unas a otras. Debido a que el jabón puede actuar como agente emulsionante, es un limpiador. (Los *agentes emulsionantes* estimulan la formación de una emulsión, es decir, la dispersión de una sustancia en otra.) Cuando se mezclan el jabón y la grasa, se forma una emulsión. Complete el diagrama siguiente, y explique cómo tiene lugar el proceso. (*Pista*: Recuerde que «lo igual disuelve a lo igual».)



Ésteres de ceras

Las **ceras** son mezclas complejas de lípidos apolares. Son cubiertas protectoras de las hojas, los tallos y las frutas de los vegetales y la piel de los animales. Los ésteres formados por ácidos grasos de cadena larga y alcoholes de cadena larga son constituyentes destacados de la mayoría de las ceras. Entre los ejemplos bien conocidos se encuentran la cera de carnauba, producida por las hojas de la palma de cera brasileña, y la cera de abeja. El constituyente predominante de la cera de carnauba es el éster de cera melisil cerotato (Fig. 11-5). El triacontil hexadecanoato es uno de los ésteres de cera importantes de la cera de abeja. Las ceras contienen también hidrocarburos, alcoholes, ácidos grasos, aldehídos y esteroles (alcoholes esteroides).

$$CH_3-(CH_2)_{24}-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-O-(CH_2)_{29}-CH_3$$

FIGURA 11-5

El éster de cera melisil cerotato.

El melisil cerotato, que se encuentra en la cera de carnauba, es un éster formado por alcohol melisilo y ácido cerótico.

Fosfolípidos

Los **fosfolípidos** desempeñan varias funciones en los seres vivos. Son los primeros y más importantes componentes estructurales de las membranas. Además, varios fosfolípidos son agentes emulsionantes y agentes superficiales activos. (Un *agente superficial activo* es una sustancia que disminuye la tensión superficial de un líquido, normalmente el agua, de forma que se dispersa por una superficie.) Los fosfolípidos son muy adecuados para estas funciones ya que son moléculas anfipáticas. A pesar de sus diferencias estructurales, todos los fosfolípidos poseen dominios hidrófobos e hidrófilos. El dominio hidrófobo está formado en gran parte por las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos; el dominio hidrófilo, que se denomina **grupo de cabeza polar**, contiene fosfato y otros grupos cargados o polares.

Cuando los fosfolípidos se suspenden en agua, se reagrupan espontáneamente en estructuras ordenadas (Fig. 11-6). Al formarse estas estructuras, los grupos hidrófobos de los fosfolípidos quedan enterrados en el interior para excluir el agua. Simultáneamente, los grupos de cabeza hidrófilos se orientan de forma que se exponen al agua. Cuando están presentes las moléculas de fosfolípidos en una concentración suficiente, forman capas bimoleculares. Esta propiedad de los fosfolípidos (y otras moléculas lipídicas anfipáticas) es la base de la estructura de la membrana (véanse las págs. 353-361).

Existen dos tipos de fosfolípidos: fosfoglicéridos y esfingomielinas. Los **fosfoglicéridos** son moléculas que contienen glicerol, ácidos grasos, fosfato y un alcohol

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 11.1. Los eicosanoides

Los **eicosanoides** son un grupo de sustancias muy potentes semejantes a las hormonas que se producen en la mayoría de los tejidos animales. Intervienen en una gran variedad de procesos biológicos. Entre los ejemplos se encuentran la contracción del músculo liso, la inflamación, la percepción del dolor y la regulación del flujo sanguíneo. Los eicosanoides participan también en varias enfermedades como el infarto de miocardio y la artritis reumatoide. Debido a que generalmente son activos dentro de la célula en la que se producen, los eicosanoides se denominan reguladores **autocrinos**, en lugar de hormonas. La mayoría de los eicosanoides se forman a partir del ácido araquidónico ($20{:}4^{\Delta 5,8,11,14}$), que también se denomina ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico. (El ácido araquidónico se sintetiza a partir del ácido linoleico añadiendo una unidad de tres carbonos y produciéndose posteriormente una descarboxilación y una desaturación.)

La producción de eicosanoides comienza tras liberarse el ácido araquidónico de las moléculas de fosfolípidos de las membranas por la enzima fosfolipasa A_2. Los eicosanoides, que comprenden las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos (Fig. 11A), son muy difíciles de estudiar, ya que son activos durante períodos cortos (a menudo segundos o minutos). Además, sólo se producen en cantidades pequeñas.

Las **prostaglandinas** son derivados del ácido araquidónico que contienen un anillo de ciclopentano con grupos hidroxilo en C-11 y C-15. Las moléculas que pertenecen a la serie E de las prostaglandinas poseen un grupo carbonilo en C-9, mientras que las moléculas de la serie F tienen un grupo OH en la misma posición. El subíndice en el nombre de una prostaglandina indica el número de dobles enlaces de la molécula. La serie 2, que deriva del ácido araquidónico, parece

(a) PGE_2 $PGF_{2\alpha}$ PGH_2

(b) TXA_2 TXB_2

(c) LTC_4 LTE_4

FIGURA 11A

Eicosanoides.

(a) Prostaglandinas E_2, $F_{2\alpha}$ y H_2. (b) Tromboxanos A_2 y B_2. (c) Leucotrienos C_4 y E_4.

ser el grupo más importante de prostagladinas en el ser humano. Las prostaglandinas tienen una gran variedad de funciones reguladoras. Por ejemplo, las prostaglandinas estimulan la inflamación, un proceso de lucha contra la infección que produce dolor y fiebre. También participan en los procesos reproductores (p. ej., la ovulación y las contracciones uterinas durante el embarazo y el parto) y la digestión (p. ej., la inhibición de la secreción gástrica). En la Figura 11B se dan otras acciones biológicas de algunas prostaglandinas seleccionadas. El metabolismo de las prostaglandinas es complejo por las siguientes razones:

1. Hay muchos tipos de prostaglandinas.
2. Los tipos y cantidades de las prostaglandinas son diferentes en cada órgano o tejido.
3. Determinadas prostaglandinas tienen efectos opuestos en diferentes órganos, es decir, sus receptores son específicos de tejido. (Por ejemplo, varias prostaglandinas de la serie E producen la relajación de la musculatura lisa en órganos como el intestino y el útero, mientras que las mismas moléculas estimulan la contracción del músculo liso en el sistema cardiovascular.)

Los **tromboxanos** también se forman a partir del ácido araquidónico. Se diferencian de otros eicosanoides en que sus estructuras tienen un éter cíclico. El tromboxano A_2 (TXA_2), el miembro más destacado de este grupo de eicosanoides, lo producen principalmente las plaquetas (fragmentos celulares de la sangre que inician su coagulación). Una vez liberado, el TXA_2 estimula la agregación de las plaquetas y la vasoconstricción.

Los **leucotrienos** son derivados lineales (acíclicos) del ácido araquidónico cuya síntesis se inicia con una reacción de peroxidación. Los leucotrienos se diferencian por la posición de este paso de peroxidación y la naturaleza del grupo tioéter unido cerca del lugar de peroxidación. El nombre de *leucotrienos* surge de su descubrimiento inicial en los leucocitos y de la presencia de un *trieno* (tres dobles enlaces conjugados) en sus estructuras. (El término *conjugado* indica que los dobles enlaces carbono-carbono están separados por un enlace sencillo carbono-carbono.) Los leucotrienos LTC_4, LTD_4 y LTE_4 se han identificado como componentes de la sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A). (El subíndice en el nombre de un leucotrieno indica el número total de dobles enlaces de la molécula.) La *anafilaxia* es una reacción alérgica grave poco habitual que produce insuficiencia respiratoria, descenso de la presión sanguínea y shock. Durante la inflamación (una respuesta normal al daño tisular) estas moléculas incrementan la pérdida de líquido de los vasos sanguíneos en las áreas afectadas. El LTB_4, un agente quimiotáctico potente, atrae hacia el tejido dañado a los leucocitos que luchan contra la infección. (Los agentes quimiotácticos se denominan también quimioatrayentes.) Otros efectos de los leucotrienos son vasoconstricción, broncoconstricción (producidas ambas por la contracción de la musculatura lisa en los vasos sanguíneos y los conductos aéreos de los pulmones) y edema (aumento de la permeabilidad capilar que produce la pérdida de líquido de los vasos sanguíneos).

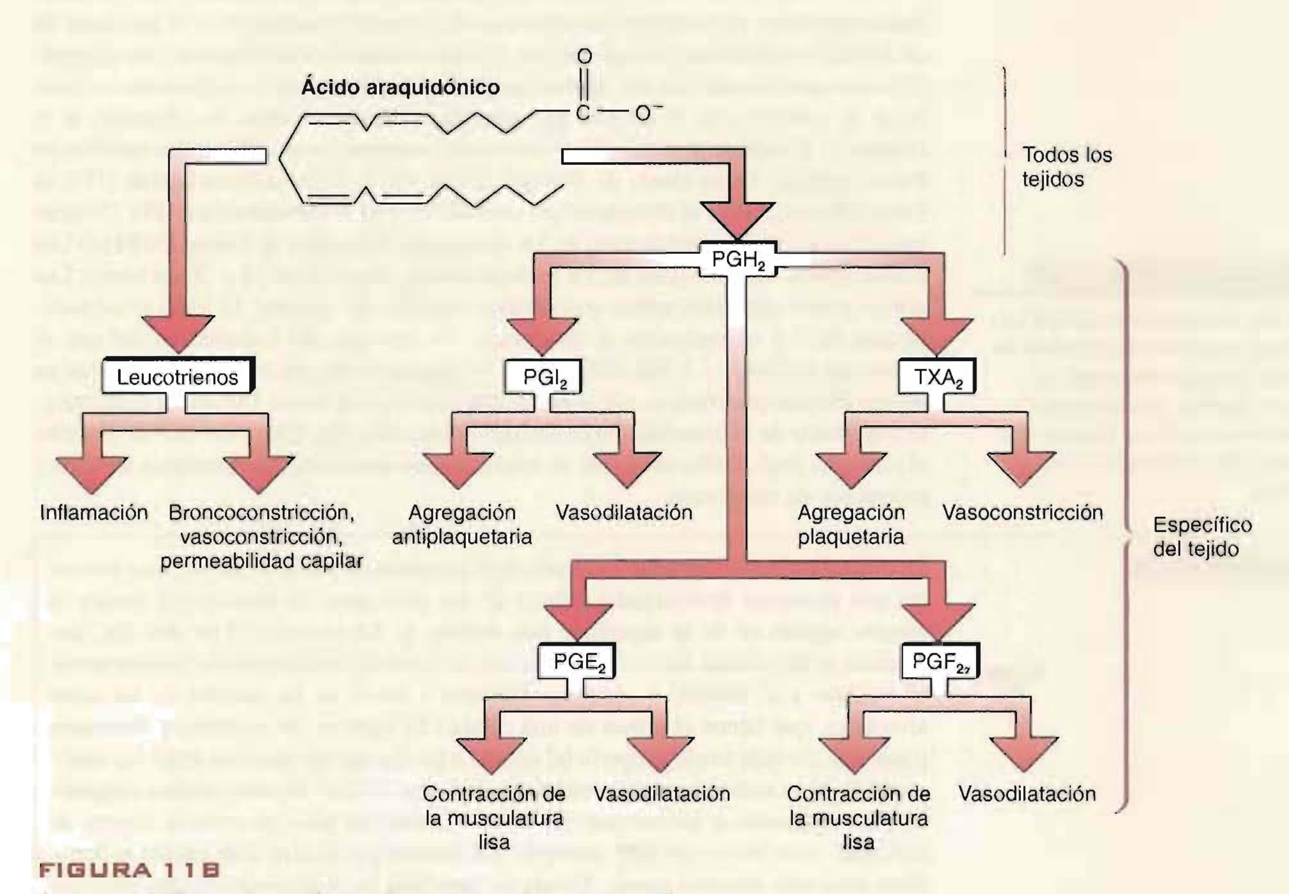


FIGURA 11B

Acciones biológicas de moléculas de eiocosanoides seleccionadas.
En el Capítulo 12 se considera la síntesis de estas moléculas.

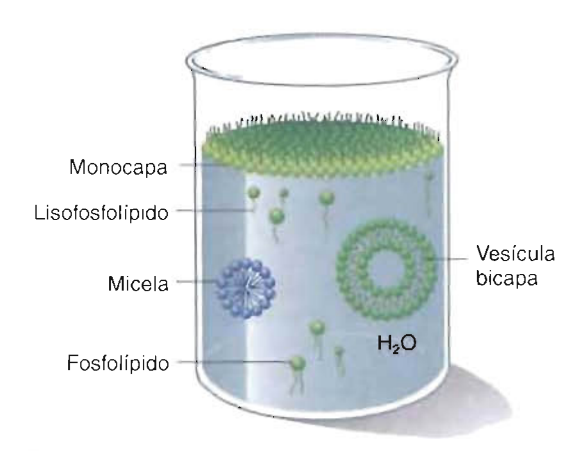


FIGURA 11-6
Moléculas de fosfolípidos en disolución acuosa
Cada molécula está representada por un grupo de cabeza polar unido a una o dos cadenas de ácido graso. (Las moléculas de lisofosfolípido sólo poseen una cadena de ácido graso.) Primero se forma la monocapa sobre la superficie del agua. Al aumentar la concentración de fosfolípido, comienzan a formarse vesículas bicapa. Debido a su menor tamaño, las moléculas de lisofosfolípido forman micelas.

(p. ej., colina). Las **esfingomielinas** se diferencian de los fosfoglicéridos en que contienen esfingosina en lugar de glicerol. Debido a que las esfingomielinas también se clasifican como esfingolípidos, sus estructuras y propiedades se consideran en esa sección.

Los fosfoglicéridos son las moléculas de fosfolípidos más numerosas de las membranas celulares. El fosfoglicérido más sencillo, el ácido fosfatídico, es el precursor de las demás moléculas de fosfoglicéridos. El ácido fosfatídico está formado por glicerol-3-fosfato esterificado con dos ácidos grasos. Las moléculas de fosfoglicérido se clasifican de acuerdo con el alcohol que esterifica el grupo fosfato. Por ejemplo, si el alcohol es la colina, la molécula se denomina fosfatidilcolina (PC) (que también se llama lecitina). Otras clases de fosfoglicéridos son la fosfatidiletanolamina (PE), la fosfatidilserina (PS), el difosfatidilglicerol (dPG) y el fosfatidilinositol (PI). (Véanse en el Cuadro 11.2 las estructuras de las clases más habituales de fosfoglicéridos.) Los ácidos grasos más comunes de los fosfoglicéridos tienen entre 16 y 20 carbonos. Los ácidos grasos saturados suelen encontrarse en el C-1 del glicerol. El ácido graso sustituyente de C-2 normalmente es insaturado. Un derivado del fosfatidilinositol que se denomina fosfatidil-4,5-bisfosfato (PIP_2), se encuentra sólo en cantidades pequeñas en las membranas plasmáticas. En la actualidad se considera que el PIP_2 es un componente importante de la transducción de señales intracelular. En la Sección 16.4 se describe el *ciclo del fosfatidilinositol*, que se inicia cuando determinadas hormonas se unen a receptores de membrana.

CONCEPTOS CLAVE 11.3

Los fosfolípidos son moléculas anfipáticas que desempeñan funciones importantes en los seres vivos, como componentes de las membranas, agentes emulsionantes y agentes superficiales activos. Existen dos clases de fosfolípidos: fosfoglicéridos y esfingomielinas.

PREGUNTA 11.3



La dipalmitoilfosfatidilcolina es el principal componente del *tensioactivo*, una sustancia que producen determinadas células de los pulmones. El tensioactivo reduce la tensión superficial de la superficie más interna de los alvéolos. (Los alvéolos, que también se denominan sacos alveolares, son las unidades funcionales de la respiración. El oxígeno y el dióxido de carbono difunden a través de las paredes de los sacos alveolares, que tienen el grosor de una célula.) El agua de las superficies alveolares posee una elevada tensión superficial debido a las fuerzas de atracción entre las moléculas. Si no se reduce la tensión superficial del agua, el saco alveolar tiende a colapsarse, y la respiración se vuelve muy dificultosa. Cuando los niños prematuros carecen de suficiente tensioactivo, es muy probable que mueran por asfixia. Este estado se denomina *síndrome disneico agudo*. Dibuje la estructura de la dipalmitoilfosfatidilcolina. Considerando las características estructurales generales de los fosfolípidos, proponga una razón por la que el tensioactivo es eficaz en la reducción de la tensión superficial.

CUADRO 11-2
Principales clases de fosfoglicéridos

$$\begin{array}{l} CH_2O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-R_1 \\ R_2\overset{\overset{O}{\|}}{C}O-CH \\ CH_2O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{O^-}{P}}-O-X \end{array}$$

Sustituyente X		
Nombre de X-OH	**Fórmula de X**	**Nombre del fosfolípido**
Agua	$-H$	Ácido fosfatídico
Colina	$-CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$	Fosfatidilcolina (lecitina)
Etanolamina	$-CH_2CH_2\overset{+}{N}H_3$	Fosfatidiletanolamina (cefalina)
Serina	$-CH_2-CH(\overset{+}{N}H_3)(COO^-)$	Fosfatidilserina
Glicerol	$-CH_2CH(OH)CH_2OH$	Fosfatidilglicerol
Fosfatidilglicerol	$-CH_2CH(OH)-CH_2-O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{O^-}{P}}-O-CH_2-CH(O\overset{\overset{O}{\|}}{C}R)-CH_2O\overset{\overset{O}{\|}}{C}R$	Difosfatidilglicerol (cardiolipina)
Inositol	(anillo de inositol con cinco OH)	Fosfatidilinositol

Esfingolípidos

Los **esfingolípidos** son componentes importantes de las membranas animales y vegetales. Todas las moléculas de esfingolípidos contienen un aminoalcohol de cadena larga. En los animales, este alcohol es principalmente la esfingosina (Fig. 11-7). La fitoesfingosina se encuentra en los esfingolípidos de los vegetales. El centro de cada clase de esfingolípido es una *ceramida*, un derivado amida de ácido graso de la esfingosina. En las *esfingomielinas*, el grupo hidroxilo 1 de la ceramida está esterificado con el grupo fosfato de la fosforilcolina o la fosforiletanolamina (Fig. 11-8). Las esfingomielinas se encuentran en la mayoría de las membranas celulares animales. Sin embargo, como sugiere este nombre, las esfingomielinas se encuentran en mayor abundancia en la vaina de mielina de las células nerviosas. (La vaina de mielina se forma por envolturas sucesivas de la membrana celular de una célula

$CH_3(CH_2)_{12}CH{=}CH{-}CH(OH){-}CH(\overset{+}{N}H_3){-}CH_2OH$

Esfingosina

$CH_3(CH_2)_{12}CH_2{-}CH(OH){-}CH(OH){-}CH(\overset{+}{N}H_3){-}CH_2OH$

Fitoesfingosina

$CH_3(CH_2)_{12}CH{=}CH{-}CH(OH){-}CH(NH{-}C(=O){-}(CH_2)_{12}{-}CH_3){-}CH_2OH$

Una ceramida

FIGURA 11-7

Componentes de los esfingolípidos.

Obsérvese que en los esfingolípidos se encuentra el isómero *trans* de la esfingosina.

FIGURA 11-8

Modelos conformacional y de relleno espacial de la esfingomileina.

$(CH_3)_3N^+{-}CH_2{-}CH_2{-}O{-}P(=O)(O^-){-}O{-}CH_2{-}CH(NH{-}C{=}O){-}C(H)(HO){-}$



mielinizante especializada alrededor del axón de una célula nerviosa. Sus propiedades aislantes facilitan la transmisión rápida de los impulsos nerviosos.)

Las ceramidas también son precursoras de los **glucolípidos**, que suelen denominarse *glucoesfingolípidos* (Fig. 11-9). En los glucolípidos, se encuentran unidos a la ceramida un monosacárido, un disacárido o un oligosacárido mediante un enlace glucosídico O. Los glucolípidos se diferencian también de las esfingomielinas en que no contienen fosfato. Las clases más importantes de glucolípidos son los cerebrósidos, los sulfátidos y los gangliósidos. Los *cerebrósidos* son esfingolípidos en los que el grupo de cabeza es un monosacárido. (Estas moléculas, a diferencia de los fosfolípidos, no son iónicas.) Los galactocerebrósidos, el ejemplo más importante de esta clase, se encuentran casi por completo en las membranas celulares del cerebro. Si se sulfata un cerebrósido, se le denomina *sulfátido*. Los sulfátidos a pH fisiológico están cargados negativamente. Los esfingolípidos que poseen grupos oligosacári-

(a)

(b)

(c)

FIGURA 11-9

Glucolípidos seleccionados.

(a) Gangliósido de Tay-Sachs (GM_2), (b) glucocerebrósido, y (c) galactocerebrósido sulfato (sulfátido).

do con uno o varios residuos de ácido siálico se denominan *gangliósidos*. Aunque los gangliósidos se aislaron inicialmente a partir del tejido nervioso, se encuentran también en la mayoría del resto de tejidos animales. Los nombres de los gangliósidos incluyen superíndices con letras y números. Las letras M, D y T indican si la molécula tiene uno, dos o tres residuos de ácido siálico (véase la Fig. 7-23d). Los números designan la secuencia de azúcares que están unidos a la ceramida. En la Figura 11-9 se representa el gangliósido de Tay-Sachs G_{M2}.

El papel de los glucolípidos no está aún claro. Determinadas moléculas de glucolípido pueden unir toxinas bacterianas, así como células bacterianas, a las membranas celulares animales. Por ejemplo, las toxinas que producen el cólera, el tétanos y el botulismo se unen a receptores glucolípidos de las membranas celulares. Entre las bacterias que se ha demostrado se unen a receptores de glucolípidos se encuentran *Escherichia coli*, *Estreptococcus pneumoniae* y *Neisseria gonorrhoeae*, los agentes causales de infecciones del aparato urinario, la neumonía y la gonorrea, respectivamente.

CONCEPTOS CLAVE 11.4

Los esfingolípidos, componentes importantes de las membranas de los animales y los vegetales, contienen un aminoalcohol complejo de cadena larga (bien esfingosina o fitoesfingosina). El centro de cada esfingolípido es una ceramida, un derivado amida de ácido graso de la molécula de alcohol. Los glucolípidos son derivados de la ceramida que poseen un componente hidrato de carbono.

Enfermedades del almacenamiento de esfingolípidos

Cada una de las enfermedades lisosómicas de almacenamiento (véanse las págs. 47-48) está producida por la deficiencia hereditaria de una enzima que se requiere para la degradación de un metabolito específico. Varias enfermedades lisosómicas de almacenamiento están asociadas con el metabolismo de los esfingolípidos. La mayoría de

CUADRO 11-3

Enfermedades seleccionadas de almacenamiento de esfingolípidos*

Enfermedad	Síntomas	Esfingolípido que se acumula	Deficiencia enzimática
Enfermedad de Tay-Sachs	Ceguera, debilidad muscular, convulsiones, retraso mental	Gangliósido GM_2	β-Hexosaminidasa A
Enfermedad de Gaucher	Retraso mental, agrandamiento de hígado y bazo, erosión de los huesos largos	Glucocerebrósido	β-Glucosidasa
Enfermedad de Krabbe	Desmielinización, retraso mental	Galactocerebrósido	β-Galactosidasa
Enfermedad de Niemann-Pick	Retraso mental	Esfingomielina	Esfingomielinasa

* A muchas enfermedades se les da el nombre de los médicos que las describieron por primera vez. La enfermedad de Tay-Sachs fue descrita por Warren Tay (1843-1927), un oftalmólogo británico, y Bernard Sachs (1858-1944), un neurólogo de Nueva York. Phillipe Gaucher (1854-1918), un médico francés, y Knud Krabbe (1885-1961), un neurólogo danés, describieron por primera vez la enfermedad de Gaucher y la enfermedad de Krabbe, respectivamente. La enfermedad de Niemann-Pick fue caracterizada por primera vez por los médicos alemanes Albert Niemann (1880-1921) y Ludwig Pick (1868-1944).



estas enfermedades, que también se denominan *esfingolipidosis*, son mortales. La enfermedad de almacenamiento de esfingolípidos más común, la enfermedad de Tay-Sachs, está producida por la deficiencia de β-hexosaminidasa A, la enzima que degrada el gangliósido G_{M2}. Al acumular las células esta molécula, se hinchan y finalmente mueren. Los síntomas de la enfermedad de Tay-Sachs (esto es, ceguera, debilidad muscular, convulsiones y retraso mental) aparecen normalmente varios meses después del nacimiento. Debido a que no existe tratamiento para la enfermedad de Tay-Sachs o para cualquier otra de las esfingolipidosis, la enfermedad siempre es mortal (normalmente a la edad de 3 años). En el Cuadro 11-3 se resumen algunos ejemplos de esfingolipidosis.

Isoprenoides

Los **isoprenoides** son un gran grupo de biomoléculas que contienen unidades estructurales de cinco carbonos que se repiten y que se denominan *unidades isopreno* (Fig. 11-10). Los isoprenoides no se sintetizan a partir del isopreno (metilbutadieno), sino que todas sus rutas de biosíntesis comienzan con la formación de isopentenil pirofosfato a partir de acetil-CoA (Capítulo 12).

Los isoprenoides constan de terpenos y esteroides. Los **terpenos** son un grupo enorme de moléculas que se encuentran en gran medida en los aceites esenciales de las plantas. (Los aceites esenciales son extractos de plantas que se han utilizado durante miles de años en perfumes y medicinas.) Los esteroides son derivados del sistema de anillo del colesterol.

TERPENOS Los terpenos se clasifican de acuerdo con el número de residuos de isopreno que contienen (Cuadro 11-4). Los *monoterpenos* están formados por dos

(a) Unidad isopreno: C—C(—C)=C—C =

(b) Isopreno: CH_2=C(—CH_3)—CH=CH_2

(c) Isopentenil pirofosfato: CH_2=C(—CH_3)—CH_2—CH_2—O—P(=O)(—O^-)—O—P(=O)(—O^-)—O^-

FIGURA 11-10

Isopreno.

(a) Estructura básica del isopreno, (b) molécula orgánica de isopreno, (c) isopentenil pirofosfato.

CUADRO 11-4
Ejemplos de terpenos.

Tipo	Número de unidades de isopreno	Ejemplo	
		Nombre	Estructura
Monoterpeno	2	Geraniol	CH_2—OH
Sesquiterpeno	3	Farneseno	
Diterpeno	4	Fitol	CH_2OH
Triterpeno	6	Escualeno	
Tetraterpeno	8	β-Caroteno	
Politerpeno	Miles	Goma	$[CH_2—C(CH_3)=CH—CH_2]_n$

unidades isopreno (10 átomos de carbono). El geraniol es un monoterpeno que se encuentra en el aceite de geranio. Los terpenos que contienen tres isoprenos (15 carbonos) se denominan *sesquiterpenos*. El farneseno, un constituyente importante del aceite de citronela (una sustancia que se emplea en jabones y perfumes), es un sesquiterpeno. El fitol, un alcohol vegetal, es un ejemplo de *diterpenos*, moléculas formadas por cuatro unidades isopreno. El escualeno, que se encuentran en grandes cantidades en el aceite de hígado de tiburón, el aceite de oliva y las levaduras, es un ejemplo destacado de *triterpenos*. (El escualeno es un intermediario en la síntesis de los esteroides). Los **carotenoides**, los pigmentos naranja que se encuentran en la mayoría de las plantas, son los únicos *tetraterpenos* (moléculas formadas por ocho unidades isopreno). Los *carotenos* son miembros hidrocarbonados de este grupo. Las *xantofilas* son derivados oxigenados de los carotenos. Los *politerpenos* son moléculas de peso molecular elevado formadas por cientos o miles de unidades isopreno. La goma natural es un politerpeno formado por un número comprendido entre 3000 y 6000 unidades isopreno.

Varias biomoléculas importantes están formadas por componentes no terpénicos unidos a grupos isoprenoides (a menudo denominados grupos *prenilo* o *isoprenilo*). Entre estas moléculas, que se denominan **terpenoides mixtos**, se encuentran la vitamina E (α-tocoferol) (Fig. 10-22a), la ubiquinona (Fig. 10-3), la vitamina K y algunas citoquininas (hormonas vegetales) (Fig. 11-11).

En la actualidad se sabe que diversas proteínas de las células eucariotas están unidas covalentemente a grupos prenilo tras su biosíntesis en los ribosomas. Los grupos prenilo que más participan en este proceso, denominado **prenilación**, son los grupos farnesilo y geranilgeranilo (Fig. 11-12). La función de la prenilación proteica no está clara. Hay algunas pruebas de que participa en el control del crecimiento celular. Por ejemplo, las *proteínas Ras*, un grupo de reguladores del crecimiento celular, se activan por reacciones de prenilación.

Vitamina K_1 (filoquinona)

Vitamina K_2 (menaquinona)

(a)

Citoquinina (zeatina)

(b)

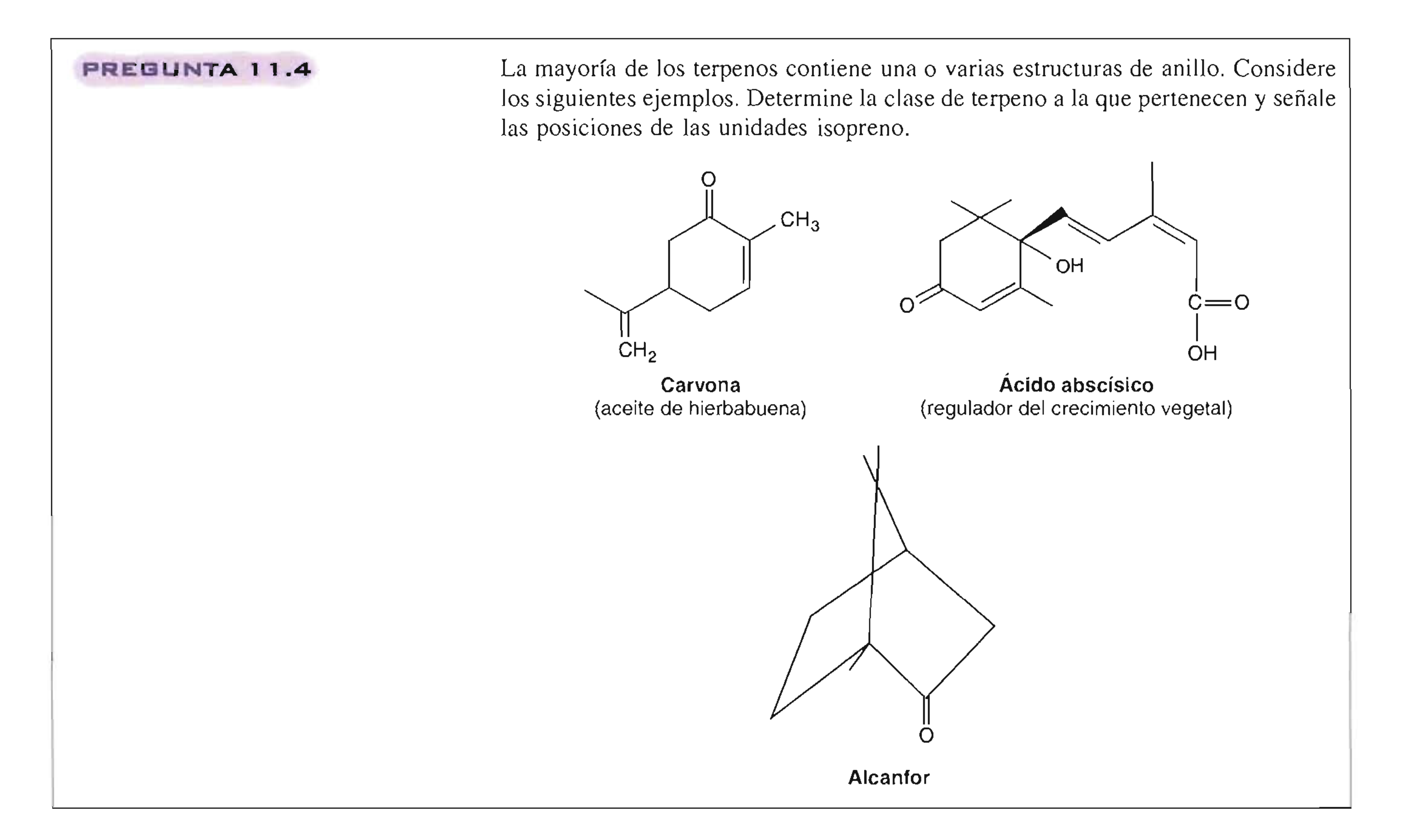
FIGURA 11-11

Terpenoides mixtos seleccionados.

(a) La vitamina K_1 (filoquinona) se encuentra en las plantas, donde actúa como transportador electrónico en la fotosíntesis. La vitamina K_2 (menaquinona) la sintetizan por las bacterias intestinales y desempeña una función importante en la coagulación de la sangre. (b) Las citoquininas son sustancias que estimulan la división celular en las plantas. Algunas citoquininas son terpenoides mixtos. La zeatina se encuentra en las semillas inmaduras del maíz.

PREGUNTA 11.4

La mayoría de los terpenos contiene una o varias estructuras de anillo. Considere los siguientes ejemplos. Determine la clase de terpeno a la que pertenecen y señale las posiciones de las unidades isopreno.



ESTEROIDES Los **esteroides** son derivados complejos de los triterpenos. Se encuentran en todos los eucariotas y en un pequeño número de bacterias. Cada tipo de esteroide está formado por cuatro anillos fusionados. Los esteroides se diferen-

H_2N∿∿∿ Cys—C(=O)—O—CH_3 | S

H_2N∿∿∿ Cys—C(=O)—O—CH_3 | S

(a) (b)

FIGURA 11-12

Proteínas preniladas.

Los grupos prenilo están unidos covalentemente al grupo SH de los residuos de cisteína C-terminales. Muchas proteínas preniladas también están metiladas en este residuo. (a) Proteína farnesilada, (b) proteína geranilgeranilada.

cian entre ellos por la posición de los dobles enlaces carbono-carbono y diversos sustituyentes (p. ej., grupos hidroxilo, carbonilo y alquilo).

El colesterol, una molécula importante de los animales, es un ejemplo de esteroide (Fig. 11-13). Además de ser un componente esencial de las membranas de las células animales, el colesterol es precursor de la biosíntesis de todas las hormonas esteroideas, la vitamina D y las sales biliares (Fig. 11-14). El colesterol posee dos sustituyentes metilo esenciales (C-18 y C-19), que están unidos al C-13 y C-10, respectivamente, y un doble enlace Δ5. Una cadena lateral hidrocarbonada ramificada está unida a C-17. Debido a que esta molécula tiene un grupo hidroxilo (unido a C-3), se clasifica como *esterol.* (Aunque el término *esteroide* es más adecuado para designar a las moléculas que contienen uno o varios grupos carbonilo o carboxilo, suele utilizarse para describir todos los derivados con la estructura de anillo esteroide). El colesterol normalmente se almacena dentro de las células en forma de éster de ácido graso. La reacción de esterificación está catalizada por la enzima *acil-CoA:colesterol aciltransferasa* (ACAT), que se encuentra en la cara citoplásmica del retículo endoplásmico.

PREGUNTA 11.5

Las sales biliares son agentes emulsionantes; es decir, estimulan la formación de mezclas de sustancias hidrófobas y agua. Las sales biliares que se producen en el hígado ayudan a digerir las grasas en el intestino delgado. Se forman por la unión de los ácidos biliares con sustancias hidrófilas como el aminoácido glicina. Tras revisar la estructura del ácido cólico de la Figura 11-14, sugiera la forma en que las características estructurales de las sales biliares contribuyen a su función.



Prácticamente todas las moléculas esteroideas de los vegetales son esteroles. La función de los esteroles vegetales es todavía relativamente desconocida. Indudablemente desempeñan un papel importante en la estructura y función de la membrana. Determinados derivados de los esteroles, como los glucósidos cardíacos, protegen a las plantas que los producen de los depredadores. La mayoría de los esteroles vege-

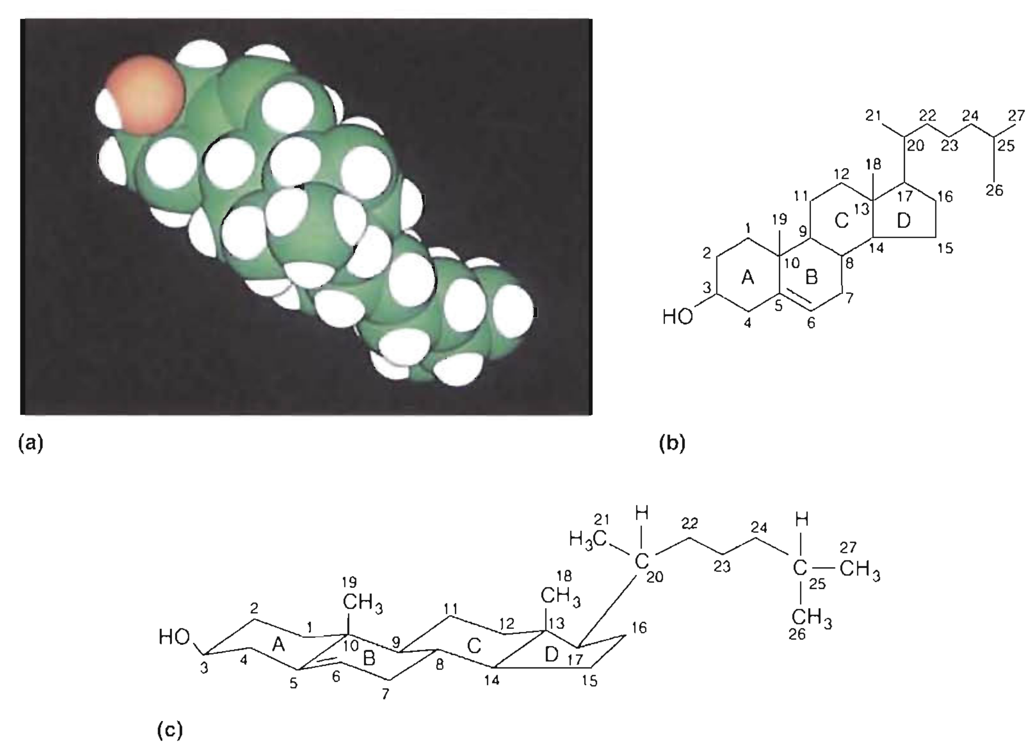


FIGURA 11-13
Estructura del colesterol.

(a) Modelo de relleno espacial, (b) representación convencional, y (c) modelo conformacional. Los modelos de relleno espacial y los modelos conformacionales (véase la pág. 206) son representaciones más exactas de la estructura molecular que la representación convencional.

tales posee un sustituyente de uno o dos carbonos unido a C-24. Los esteroles más abundantes de las algas verdes y de los vegetales superiores son el β-sitosterol y el estigmasterol (Fig. 11-15).



CONCEPTOS CLAVE 11.5

Los isoprenoides son un gran grupo de biomoléculas con unidades repetidas que derivan del isopentenil pirofosfato. Existen dos clases de isoprenoides: terpenos y esteroides.

Los glucósidos cardíacos, moléculas que incrementan la fuerza de contracción del músculo cardíaco, se encuentran entre los derivados de esteroides más interesantes. Los glucósidos son acetales que contienen hidratos de carbono (véase la pág. 210). Aunque varios glucósidos cardíacos son muy tóxicos (p. ej., la *ouabaína*, que se obtiene de las semillas de la planta *Strophantus gratus*), otros poseen propiedades medicinales valiosas (Fig. 11-16). Por ejemplo, la *digital*, un extracto de las hojas secas de *Digitalis purpurea*, es un estimulador de la contracción del músculo cardíaco cuyo uso ha consagrado el tiempo. La *digitoxina*, el principal glucósido «cardiotónico» de la digital, se utiliza para tratar la insuficiencia cardíaca congestiva, una enfermedad en la que el corazón está tan dañado por el proceso morboso (p. ej., infarto de miocardio) que el bombeo está deteriorado. En dosis superiores a las terapéuticas, la digitoxina es muy tóxica. Tanto la ouabaína como la digitoxina inhiben la Na^+–K^+ ATPasa (véase la pág. 363).

Lipoproteínas

Aunque el términco *lipoproteína* puede describir a cualquier proteína que esté unida covalentemente a grupos lipídicos (p. ej., ácidos grasos o grupos prenilo), suele utilizarse por un grupo de complejos moleculares que se encuentran en el plasma sanguíneo de los mamíferos (especialmente el ser humano). Las lipoproteínas plasmáticas transportan las moléculas lipídicas (triacilgliceroles, fosfolípidos y colesterol) a través del torrente sanguíneo de un órgano a otro. Las lipoproteínas también contienen varias clases de moléculas antioxidantes liposolubles (p. ej., α-tocoferol y varios carotenoides). (La función de los *antioxidantes*, sustancias que protegen a las biomoléculas de los radicales libres, se describe en el Capítulo 10.) Los componentes proteicos de las lipoproteínas se

(a) Progesterona, Testosterona, 17-β-Estradiol

(b) Aldosterona, Cortisol

(c) Ácido cólico

FIGURA 11-14

Esteroides de los animales.

(a) Hormonas sexuales (moléculas que regulan el desarrollo de las estructuras sexuales y diversos comportamientos reproductores). (b) Mineralcorticoide (molécula producida en la corteza suprarrenal que regula la concentración plasmática de varios iones, especialmente del sodio). (c) Glucocorticoide (molécula que regula el metabolismo de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas). (d) Ácido biliar (molécula producida en el hígado que colabora en la absorción de las grasas del alimento y las vitaminas liposolubles en el intestino).

denominan *apolipoproteínas* o *apoproteínas*. En la Figura 11-17 se muestra una lipoproteína generalizada. En la Figura 11-18 se resumen las cantidades relativas de los componentes lipídicos y proteicos de las principales clases de lipoproteínas.

Las lipoproteínas se clasifican de acuerdo con su densidad. Los **quilomicrones**, que son lipoproteínas grandes de densidad extremadamente baja, transportan los triacilgliceroles y los ésteres de colesterol del alimento desde el intestino a los tejidos muscular y adiposo. Las **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL) (0.95-1.006 g/cm^3), que se sintetizan en el hígado, transportan los lípidos a los tejidos. Al transportarse las VLDL a través del cuerpo, van perdiendo los triacilgliceroles y algunas apoproteínas y fosfolípidos. Finalmente, los restos de VLDL sin triacilgliceroles son captados por el hígado o convertidos en **lipoproteínas de baja densidad** (LDL) (1.006-1.063 g/cm^3). Las LDL transportan el colesterol a los tejidos. En un proceso complejo (Sección 11-2) que descubrieron Michael Brown y Joseph Goldstein (que

HO
(a)

HO
(b)

HO
(c)

FIGURA 11-15
Esteroides de los vegetales.
(a) β-Sitosterol, (b) estigmasterol, y (c) ergosterol (se encuentra en los hongos). Una de las funciones más importantes de los esteroles de los vegetales es la estabilización de las membranas celulares.

FIGURA 11-16
Glucósidos cardíacos.
Cada glucósido cardíaco posee un componente glucona (hidrato de carbono) y uno aglucona. (a) En la ouabaína la glucona es un residuo de ramnosa. La aglucona esteroide de la ouabaína se denomina auabagenina. (b) La glucona de la digitoxina está formada por tres residuos de digitoxosa. La aglucona de la digitoxina se denomina digitoxigenina.

O O HO CH_3 HO HO CH_2 OH HO O CH_3 O H OH OH OH
(a)

O O CH_3 CH_3 OH CH_3 CH_3 CH_3 O O O O O O OH OH OH OH
(b)

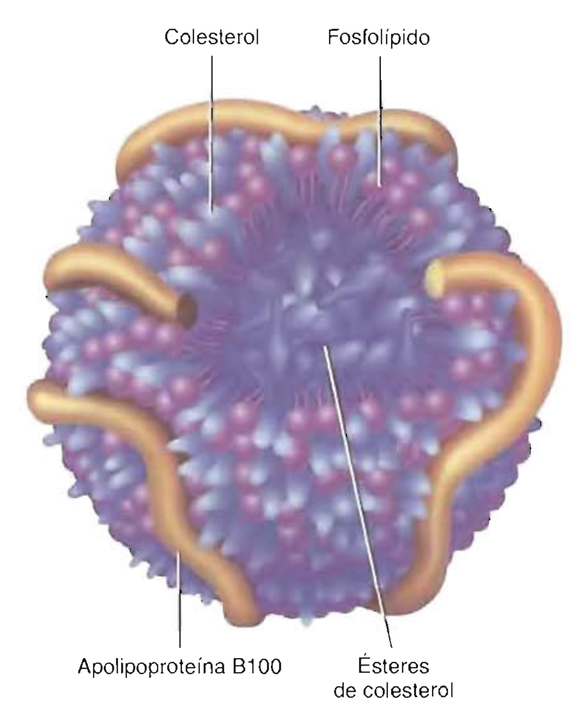


FIGURA 11-17

Lipoproteínas plasmáticas.

El tamaño de las lipoproteínas varía entre 5 y 1000 nm. Cada clase de lipoproteína contiene un centro lipídico neutro formado por ésteres de colesterol y/o triacilgliceroles. Este centro está rodeado por una capa de fosfolípidos, colesterol y proteínas. Los residuos cargados y polares en la superficie de una lipoproteína hacen posible su disolución en la sangre.
En las LDL (lipoproteínas de baja densidad), el ejemplo de esta figura, cada partícula está formada por un centro de ésteres de colesterol rodeado por una monocapa formada por cientos de moléculas de colesterol y fosfolípidos y una molécula de apolipoproteína B-100.

recibieron el Premio Nobel de Medicina o Fisiología en 1985), las LDL son engullidas por las células tras unirse a los receptores de LDL. El papel de las **lipoproteinas de densidad elevada** (HDL) (1.063-1.210 g/cm^3), que también se producen en el hígado, parecen ser las que eliminan el colesterol excesivo de las membranas celulares. Los ésteres de colesterol se forman cuando la enzima plasmática lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT) transfiere un residuo de ácido graso desde la lecitina al colesterol (Fig. 11-19). Actualmente se piensa que las HDL transportan estos ésteres de colesterol al hígado. El hígado, el único órgano que puede desprenderse del exceso de colesterol, convierte la mayoría de éste en ácidos biliares (Capítulo 12).

CONCEPTOS CLAVE 11.6

Las lipoproteínas plasmáticas transportan los lípidos a través del torrente sanguíneo. De acuerdo con su densidad, las lipoproteínas se clasifican en cuatro clases principales: quilomicrones, VLDL, LDL y HDL.

Lipoproteinas y aterosclerosis

La **aterosclerosis** es una enfermedad crónica en la que en el interior de las arterias se acumulan masas blandas, que se denominan *ateromas*. Estos depósitos también reciben el nombre de *placas*. Durante la formación de la placa, que es un proceso progresivo, se juntan células del músculo liso, macrófagos y varios residuos celulares. Al llenarse de lípidos los macrófagos (predominantemente colesterol y ésteres de colesterol que proceden de los depósitos de LDL de la pared arterial dañada mecánicamente), adquieren un aspecto espumoso, y de ahí el nombre de *células espumosas*. Finalmente, la placa aterosclerótica puede calcificarse y sobresalir lo suficiente en las luces arteriales (la cavidad interior) para impedir el flujo sanguíneo. Normalmente sobreviene la interrupción de las funciones de los órganos vitales, especialmente las del cerebro, el corazón y los pulmones, lo cual produce la pérdida de oxígeno y nutrientes. En la *enfermedad arterial coronaria*, una de las consecuencias más habituales de la aterosclerosis, esta pérdida daña el músculo cardíaco (Recuadro de Interés Especial 10.3).



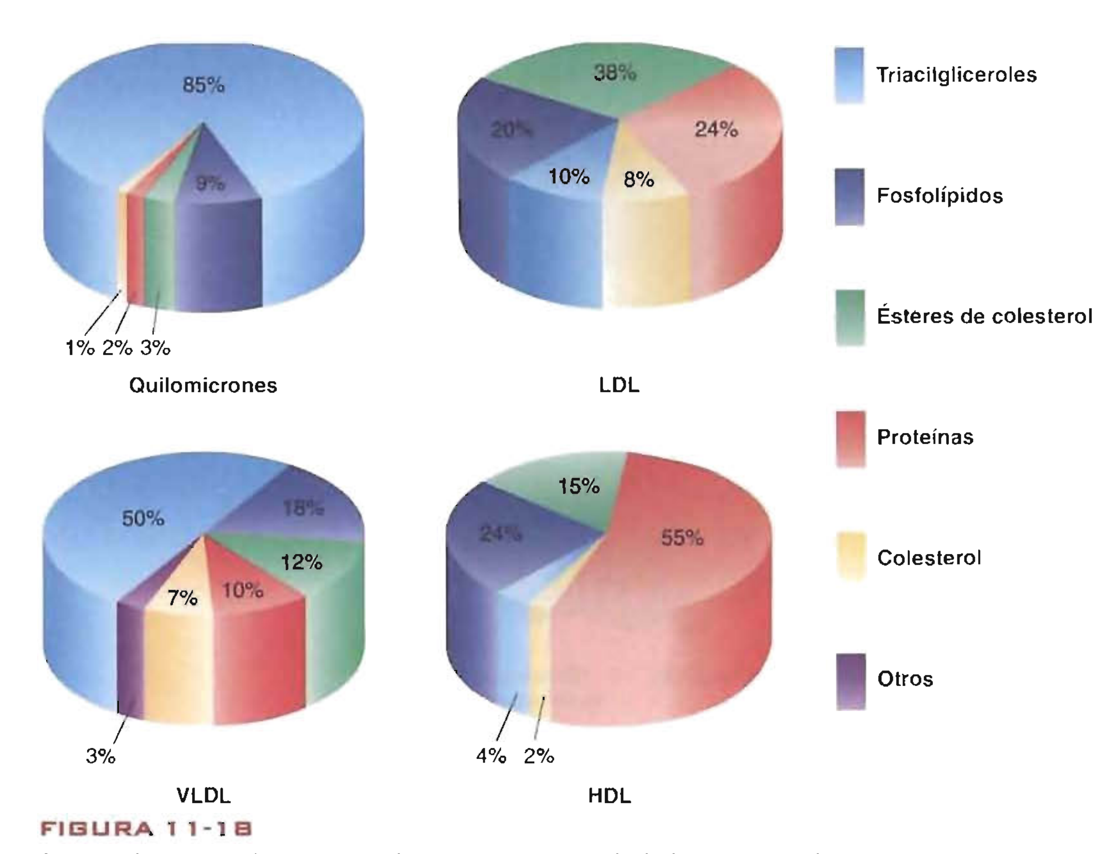


FIGURA 11-18

Proporción relativa de colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos y proteínas en las cuatro clases principales de lipoproteínas plasmáticas.

Los quilomicrones son las lipoproteínas plasmáticas más grandes, ya que contienen el mayor porcentaje de moléculas lipídicas. Por el contrario, las HDL tienen un diámetro relativamente pequeño, ya que su contenido proteico elevado las hace densas.

Fosfatidilcolina + Colesterol

Lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)

Lisofosfatidilcolina + Éster de colesterol

FIGURA 11-19

Reacción catalizada por la lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT).

La proteína de transferencia de ésteres de colesterol, una proteína asociada con el complejo LCAT-HDL, transfiere los ésteres de colesterol desde las HDL a las VLDL y las LDL. Los grupos acilo están recuadrados en color.

Debido a que la mayoría del colesterol que se encuentra en la placa se obtiene por la captación de las LDL por las células espumosas, no es sorprendente que las concentraciones plasmáticas elevadas de LDL estén directamente relacionadas con un riesgo elevado de enfermedad arterial coronaria. (Recuerde que las LDL tienen un elevado contenido de colesterol y ésteres de colesterol.) Por el contrario, una concentración plasmática elevada de HDL se considera que está asociada con un riesgo bajo de enfermedad arterial coronaria. Las células hepáticas (hepatocitos) son las únicas células que poseen receptores de HDL. (Otros factores de riesgo son una alimentación con un contenido elevado de grasa, el tabaco, el estrés y los hábitos de vida sedentarios.)

Las LDL desempeñan un papel significativo en la aterosclerosis debido a que las células que se convierten en células espumosas poseen receptores de LDL. La unión de las LDL a los receptores de LDL inicia la endocitosis (Fig. 2-22). En circunstancias normales, el colesterol y otros lípidos que se liberan tras la entrada de las LDL a la célula se utilizan para satisfacer las necesidades estructurales y metabólicas de la célula. Debido a que la función del receptor de LDL normalmente está muy regulada, la entrada de un número relativamente grande de partículas de LDL produce un descenso de la síntesis de receptores de LDL. Los macrófagos, a diferencia de otros tipos celulares, no exhiben este descenso de la síntesis de receptores de LDL. Aunque no se entiende bien la causa de la aterosclerosis, la investigación reciente ha aclarado varios aspectos. Por ejemplo, los macrófagos que se encuentran dentro de las placas ateroscleróticas poseen concentraciones elevadas de receptores de LDL con afinidad por las LDL oxidadas (p. ej., dañadas). Los ensayos clínicos y los estudios animales han descubierto que las alimentaciones complementadas con ácido ascórbico y α-tocoferol, dos potentes antioxidantes, pueden retrasar o detener la formación de la placa.

11.2. MEMBRANAS

La mayoría de las propiedades que se atribuyen a los seres vivos (p. ej., movimiento, crecimiento, reproducción y metabolismo) dependen, bien directamente o indirectamente, de las membranas. Todas las membranas biológicas poseen la misma estructura general. Como se ha mencionado previamente (Capítulo 2), las membranas contienen moléculas de lípidos y proteínas. En el concepto de membrana aceptado actualmente, que se denomina **modelo de mosaico fluido**, la membrana es una capa lipídica molecular (**bicapa lipídica**). Las proteínas, la mayoría de las cuales flotan dentro de la bicapa lipídica, determinan en gran medida las funciones biológicas de las membranas. Debido a la importancia de las membranas en los procesos bioquímicos, el resto del Capítulo 11 se dedica a considerar su estructura y funciones.

Estructura de la membrana

Debido a que cada tipo celular tiene sus propias funciones, no es de extrañar que la estructura de sus membranas sea también singular. No es sorprendente que la proporción de lípidos y proteínas varíe considerablemente entre los tipos celulares y entre los orgánulos dentro de cada célula (Cuadro 11-5). Varían también las clases de lípidos y proteínas que se encuentran en cada membrana.

CUADRO 11-5

Composición química de algunas membranas celulares.

Membranas	Proteínas %	Lípidos %	Hidratos de carbono %
Membrana plasmática de los eritrocitos humanos	49	43	8
Membrana plasmática de los hepatocitos de ratón	46	54	2-4
Membrana plasmática de la ameba	54	42	4
Membrana mitocondrial interna	76	24	1-2
Membrana lamelar del cloroplasto de la espinaca	70	30	6
Membrana púrpura de Halobacteria	75	25	0

Fuente: G. Guidotti, Membrane Proteins, *Ann. Rev. Biochem.*, 41:731, 1972.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 11.2. Contra las desigualdades

La mayoría de los factores de riesgo de aterosclerosis pueden reducirse mediante cambios del comportamiento. El ejercicio, una alimentación con pocas grasas y la eliminación del tabaco normalmente disminuyen la probabilidad de una enfermedad arterial coronaria. Sin embargo, la herencia genética de la persona con frecuencia desempeña un papel decisivo. Por ejemplo, algunas personas con malos hábitos de salud (p. ej., fumar y una alimentación con abundantes grasas) no tienen valores plasmáticos de LDL y colesterol elevados. De manera semejante, algunas personas con concentraciones elevadas de colesterol nunca tienen un infarto de miocardio. Por el contrario, otras personas, aparentemente con un bajo riesgo por hábitos saludables, padecen infartos de miocardio. Recientemente, los investigadores han propuesto que una variante de las LDL, denominada lipoproteína (a) (Lp(a)) puede ser, al menos parcialmente, responsable de estos casos anómalos. Como las LDL, la Lp(a) está formada por fosfolípidos, colesterol y la apoproteína B-100. Otra apoproteína, una glucoproteína que se denomina apoproteína (a) (apo(a)) está unida a la Lp(a) por un enlace disulfuro a la apoproteína B-100. La cantidad de Lp(a) del plasma sanguíneo de una persona viene determinada de forma genética y no varía de forma señalada a lo largo de la vida. Las concentraciones de Lp(a) que van desde 10 mg/dL hasta 100 mg/dL, tampoco están influidas por el ejercicio, la alimentación o los medicamentos que disminuyen los lípidos.

Tanto la Lp(a) como la apo(a) son polimórficas, es decir, sus propiedades físicas son diferentes en las distintas personas. El tamaño y la densidad de la Lp(a) difieren dependiendo de la composición lipídica y de la variante de apo(a) que posea. Por razones desconocidas, el peso molecular de la apo(a) está inversamente relacionado con la concentración plasmática de Lp(a). Una concentración plasmática de Lp(a) elevada está relacionada con un elevado riesgo de enfermedad arterial coronaria.

Aunque la Lp(a) presumiblemente actúa, igual que otras LDL, transportando los lípidos desde el hígado a otros órganos, su función precisa y su papel en las enfermedades cardiovasculares permanecen sin resolverse. Se han propuesto varios mecanismos. Por ejemplo, se ha observado que la aterosclerosis se potencia cuando los macrófagos que consumen Lp(a) migran al revestimiento de los vasos sanguíneos donde se transforman en células espumosas. Un mecanismo más interesante liga la aterosclerosis con una propiedad estructural de la apo(a).

La estructura de la apo (a) es muy similar a la del plasminógeno. (El *plasminógeno* es un zimógeno del plasma sanguíneo (véanse las págs. 189-190). Cuando se activa por una proteasa, principalmente el *activador del plasminógeno*, se produce la *plasmina*, la proteasa que disuelve la fibrina.) Debido a que la formación del coágulo sanguíneo frecuentemente desencadena infartos de miocardio, el plasminógeno es importante para disolver los coágulos. Algunos investigadores han propuesto que en determinadas condiciones, la apo(a) puede estimular la enfermedad arterial coronaria al unirse a la fibrina o al activador del plasminógeno. Debido a que la apo(a) no digiere la fibrina, está indeterminada la disolución del coágulo. Las concentraciones plasmáticas elevadas de Lp(a) también provocan la proliferación de las células de la musculatura lisa dentro de las paredes arteriales. (Recuerde que la formación inicial de la placa está asociada con un aumento del número de esas células en la pared arterial.) La Lp(a) puede interferir con la actividad de una sustancia que retarda el crecimiento, y que normalmente suprime la división celular en las paredes arteriales.

LÍPIDOS DE LA MEMBRANA Cuando las moléculas anfipáticas se suspenden en agua, espontáneamente se vuelven a colocar en estructuras ordenadas (Fig. 11-6). Al formarse estas estructuras, los grupos hidrófobos quedan enterrados en el interior anhidro. Simultáneamente, los grupos hidrófilos se orientan de forma que quedan expuestos al agua. Los fosfolípidos forman capas cuando se encuentran en una concentración suficiente. Esta propiedad de los fosfolípidos (y otras moléculas lipídicas anfipáticas) es la base de la estructura de la membrana.

Los lípidos de la membrana son en gran parte responsables de otras características importantes de las membranas biológicas:

1. Fluidez de la membrana. El término *fluidez* describe la resistencia de los componentes de la membrana al movimiento. El movimiento lateral rápido (Fig. 11-20) de las moléculas lipídicas es aparentemente responsable del funcionamiento adecuado de muchas de las proteínas de la membrana. (El movimiento de las moléculas lipídicas de un lado de una bicapa lipídica al otro es

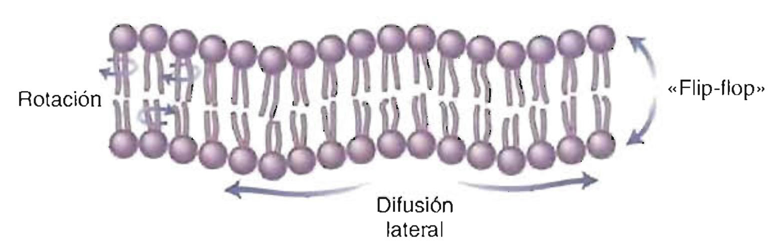


FIGURA 11-20

Difusión lateral en las membranas biológicas.

El movimiento lateral de las moléculas de fosfolípidos normalmente es relativamente rápido. El «flip-flop», la transferencia de una molécula lipídica desde un lado de la bicapa a otro, es poco frecuente.

relativamente raro.) La fluidez de una membrana viene determinada en gran parte por el porcentaje de ácidos grasos insaturados de sus moléculas de fosfolípidos. (Recuerde que las cadenas hidrocarbonadas insaturadas se colocan de forma menos densa que las saturadas; véase la pág. 332.) Una concentración elevada de cadenas insaturadas da lugar a una membrana más fluida. El colesterol modera la estabilidad de la membrana sin comprometer de forma importante la fluidez debido a que contiene elementos estructurales rígidos (sistema de anillo) y flexibles (cola hidrocarbonada) (Fig. 11-21).

2. Permeabilidad selectiva. Debido a su naturaleza hidrófoba, las cadenas hidrocarbonadas en las bicapas lipídicas proporcionan una barrera virtualmente impermeable al transporte de sustancias iónicas y polares. Las proteínas específicas de la membrana regulan el movimiento de esas sustancias dentro y fuera de la célula. Para cruzar una bicapa lipídica, una sustancia polar debe desprenderse de parte o toda su esfera de hidratación o unirse a una proteína

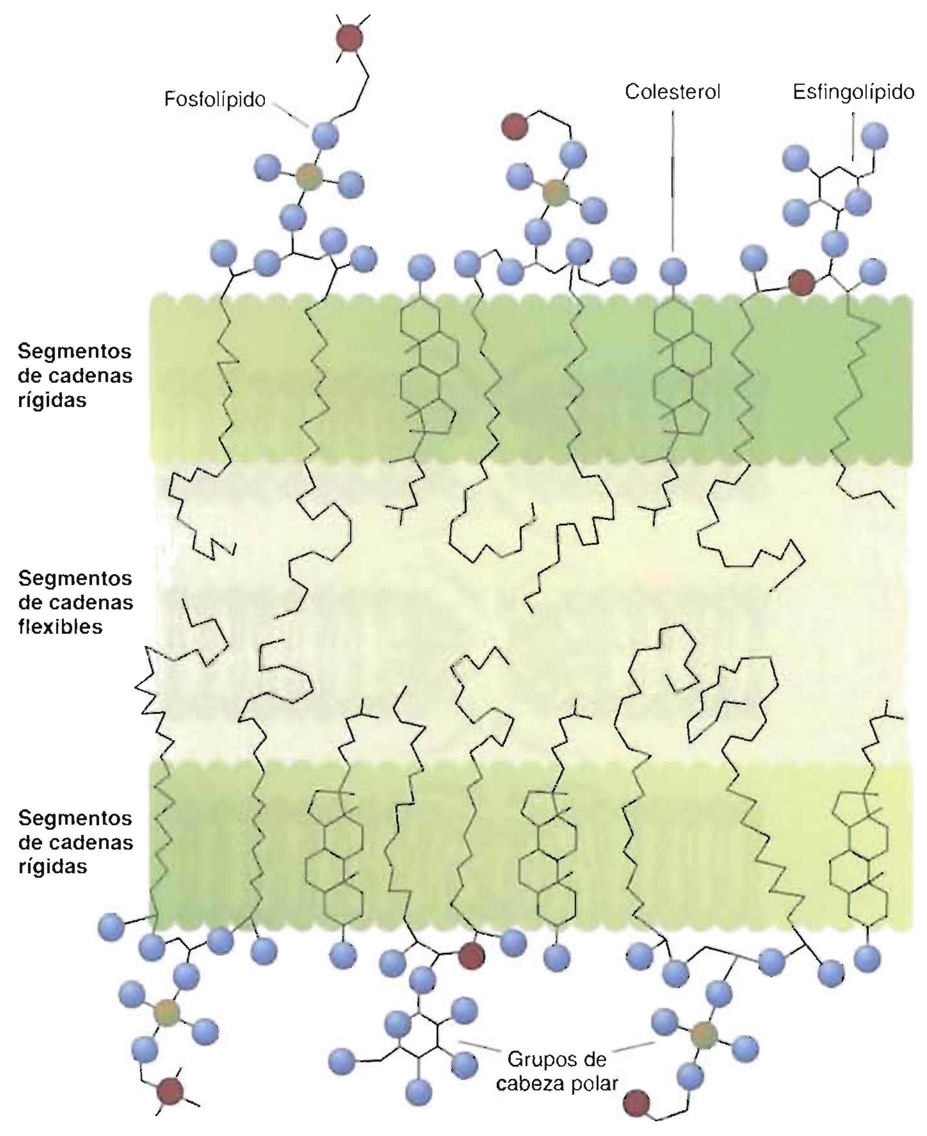


FIGURA 11-21

Bicapa lipídica.

Las cadenas hidrocarbonadas flexibles en el centro hidrófobo (área ligeramente sombreada del medio) hacen fluida a la membrana. El sistema de anillo esteroideo de las moléculas de colesterol, situado en las superficies exteriores, hacen más rígida la membrana. (Los átomos de nitrógeno son rojos, los átomos de oxígeno son azules y los átomos de fósforo son naranja.) Las membranas celulares tienen un grosor de 7 a 9 nm.

transportadora para el paso a través de un canal proteico acuoso. Ambos métodos protegen a la molécula hidrófila del centro hidrófobo de la membrana. La mayoría del movimiento transmembrana de agua acompaña al transporte iónico. Las sustancias apolares difunden simplemente a través de la bicapa lipídica a favor de sus gradientes de concentración. Cada membrana exhibe su propia capacidad de transporte o selectividad basada en sus componentes proteicos.

3. Capacidad de rehacerse. Cuando las bicapas lipídicas se rompen, inmediatamente y espontáneamente se vuelven a recomponer (Fig. 11-22) debido a que

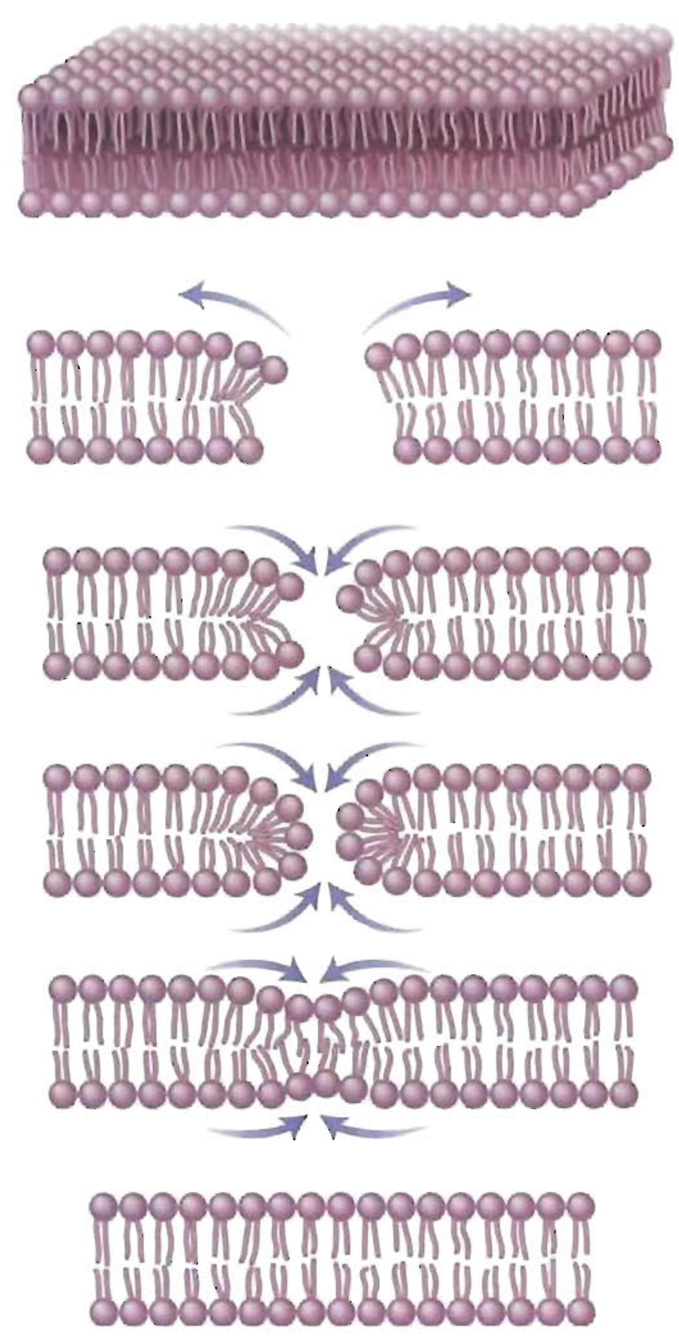


FIGURA 11-22

Recomposición de las membranas.

Las roturas de las bicapas lipídicas se vuelven a recomponer rápidamente. Cuando las colas hidrófobas de las moléculas lipídicas se exponen de repente a las moléculas polares de agua, los lípidos responden formando extremos hidrófilos que constan de grupos de cabeza polares. Al acercarse los extremos de la membrana uno a otro, se fusionan y se vuelve a formar la bicapa.

una rotura en la bicapa lipídica expone al agua las cadenas hidrocarbonadas hidrófobas. Debido a que las brechas en las membranas celulares pueden ser letales, esta propiedad de resellado tiene una importancia esencial. (En las células, determinados componentes proteicos de la membrana y del citoesqueleto, así como los iones calcio, ayudan también a la membrana a recomponerse).

4. Asimetría. Las membranas biológicas son asimétricas; es decir, la composición lipídica de cada lado de una bicapa es diferente. Por ejemplo, la membrana de los eritrocitos humanos posee sustancialmente más fosfatidilcolina y esfingomielina en su superficie externa. La mayoría de la fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina de la membrana se encuentra en el lado interno. La asimetría de la membrana no es sorprendente, ya que cada lado de la membrana está expuesto a un entorno diferente. La asimetría se origina durante la síntesis de la membrana, debido a que la biosíntesis de los fosfolípidos sólo se produce en un lado de una membrana (Recuadro de Interés Especial 12.3). Los componentes proteicos de la membrana (que se consideran más adelante) exhiben también una asimetría considerable con dominios funcionales distintivos diferentes dentro de la membrana y en las caras citoplásmicas y extracelular de la membrana.

PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA La mayoría de las funciones asociadas con las membranas biológicas requiere moléculas proteicas. Las proteínas de las membranas suelen clasificarse por la función que realizan. La mayoría de estas moléculas son componentes estructurales, enzimas, receptores hormonales o proteínas de transporte.

Las proteínas de membrana también se clasifican de acuerdo con su relación estructural con la membrana. Las proteínas que están incrustadas y/o se expanden a través de la membrana se denominan *proteínas integrales* (Fig. 11-23). Estas moléculas sólo pueden extraerse rompiendo la membrana con disolventes orgánicos o detergentes (Fig. 11-24). Las *proteínas periféricas* se encuentran unidas a la membrana principalmente a través de interacciones con proteínas integrales de la membrana. Algunas proteínas periféricas interaccionan directamente con la bicapa lipídica. De forma característica, las proteínas periféricas pueden liberarse de la membrana mediante métodos relativamente suaves (p. ej., las soluciones salinas concentradas o los cambios de pH alteran las interacciones no covalentes entre las cadenas laterales de los aminoácidos). Por varias razones técnicas (Métodos Bioquímicos 11.1) las proteínas de la membrana plasmática de los eritrocitos han sido muy estudiadas.

Las dos proteínas integrales principales de la membrana celular de los eritrocitos son la glucoforina y la proteína del canal aniónico (Fig. 11-25). La *glucoforina* es una glucoproteína de 31 kD con 131 residuos de aminoácido. Aproximadamente el 60% de su peso son hidratos de carbono. Determinados grupos de oligosacárido de

(Continúa en la pág. 360)

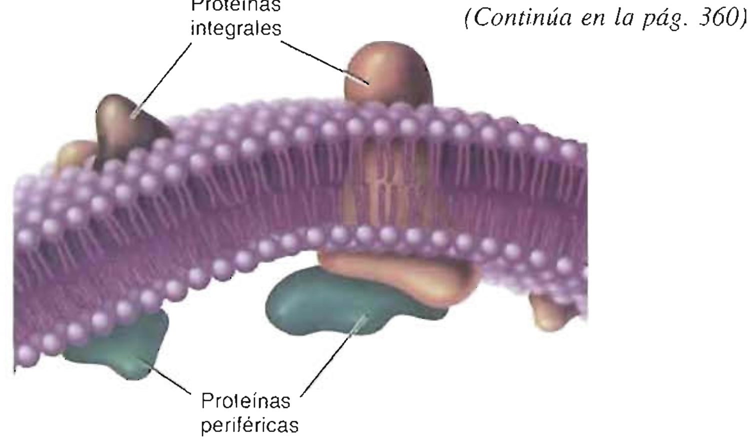


FIGURA 11-23

Proteínas integrales y periféricas de membrana.

Las proteínas integrales de membrana sólo se liberan cuando la membrana se rompe. Muchas proteínas periféricas pueden separarse con reactivos suaves.

Métodos de membrana

El reconocimiento de la gran cantidad de funciones que realizan las membranas biológicas ha llevado a diseñar numerosas técnicas para su investigación. La investigación realizada durante las últimas décadas ha proporcionado una información esencial sobre la estructura y función de las membranas. Uno de los principios más importantes descubiertos por estos esfuerzos investigadores es que las membranas de la mayoría de los seres vivos tienen muchas semejanzas estructurales. Estas características comunes permiten a los bioquímicos aplicar (con cuidado) la información obtenida en un sistema de membranas para resolver problemas estructurales de otras membranas. Por ejemplo, las características estructurales de la membrana de los eritrocitos han demostrado ser de gran valía en los estudios de otras membranas.

La investigación sobre las membranas requiere especímenes razonablemente puros. La mayoría de las membranas se obtienen mediante un proceso de varios pasos que comienza con la homogeneización de la célula y, posteriormente, con varios pasos de centrifugación. (Véase la pág. 60 en la que se dan los detalles). Existen varias razones por las que la membrana de los eritrocitos es una elección popular en la investigación sobre membranas. En primer lugar, debido a que la membrana plasmática de los eritrocitos es la única membrana de esta célula, no puede contaminarse con membranas intracelulares (un problema habitual en la investigación sobre membranas). En segundo lugar, la preparación de la membrana de los eritrocitos es relativamente sencilla. La membrana de los eritrocitos se prepara colocando los eritrocitos en una disolución hipotónica. Tras lavar con una disolución isotónica, los fragmentos de membrana pueden rehacerse para formar «fantasmas». Los fantasmas son, en efecto, eritrocitos vacíos. La membrana de los eritrocitos también puede convertirse en numerosas vesículas pequeñas rompiéndola y volviéndola a pegar. (Pueden producirse vesículas al revés y con el lado derecho hacia fuera.) Finalmente, pueden obtenerse membranas de eritrocitos en grandes cantidades en los bancos de sangre.

Composición de la membrana

Una vez aisladas, las membranas se analizan bioquímicamente para obtener la composición de lípidos y proteínas. Tras extraer los lípidos de la membrana con disolventes orgánicos (p. ej., cloroformo), se separan en clases mediante cromatografía en columna. Los fosfolípidos, el componente lipídico principal de la membrana, suelen separarse e identificarse mediante cromatografía en capa fina. La extracción y purificación de las proteínas de la membrana requiere detergentes. Los detergentes más utilizados son el tritón X-100 y el SDS (dodecil sulfato sódico). Debido a que las proteínas de la membrana requieren un entorno hidrófobo para mantener su estructura y actividad biológica, también se analizan en presencia de detergente. (En ausencia de detergente, las proteínas integrales de membrana suelen agregarse y precipitar.) Por ejemplo, la PAGE con SDS suele utilizarse (véase la pág. 156) para separar las proteínas de las membranas.

Morfología de la membrana

La disposición de las proteínas dentro de las membranas biológicas puede observarse directamente utilizando microscopía electrónica de fractura por congelación. En esta técnica, se corta con un micrótomo una membrana congelada rápidamente. (Un micrótomo es un instrumento que se utiliza para realizar cortes finos de especímenes biológicos para su estudio microscópico.) La membrana suele separarse a lo largo de las superficies internas de las dos capas lipídicas. Para prepararlas para su observación con el microscopio electrónico, las delicadas superficies internas de la membrana se sombrean con una capa fina de un metal pesado (normalmente platino). En las membranas fracturadas por congelación se suelen observar numerosas partículas intramembranosas.

Aunque la cristalografía de rayos X (véase la pág. 156) ha tenido un uso limitado en la determinación de la morfología de la membrana, normalmente proporciona un detalle estructural de baja resolución. La información de alta resolución requiere muestras cristalinas muy ordenadas. Sin embargo, la mayoría de las membranas contiene un surtido variado de proteínas diferentes. En pocas ocasiones (es decir, membranas biológicas que sólo poseen un tipo de proteína), la cristalografía de rayos X ha proporcionado información estructural de alta resolución. La «membrana púrpura» de la bacteria *Halobacterium halobium* es un ejemplo excelente. En presencia de O_2 este organismo halófilo (con afinidad por las sales) depende del metabolismo aerobio para producir energía. Cuando la concentración de O_2 es baja y la intensidad de la luz elevada, el organismo produce parches cristalinos en la membrana que se denominan membranas púrpura. El pigmento bacteriorrodopsina, el único componente proteico de la membrana púrpura, actúa como una bomba de protones impulsada por la luz. (El gradiente de pH que produce la actividad de bombeo de la bacteriorrodopsina se utiliza para sintetizar ATP.) Disminuyendo la concentración salina del medio se obtienen con facilidad especímenes relativamente puros de membrana púrpura. La membrana ordinaria del organismo se desintegra, dejando intacta la membrana púrpura.

Los estudios iniciales de la estructura proteica indicaron que la bacteriorrodopsina es un polipéptido de 248 residuos. Su residuo aminoterminal se encuentra en la superficie externa de la membrana, y su residuo carboxiloterminal se proyecta dentro del citoplasma. Los análisis detallados de la secuencia primaria de la bacteriorrodopsina descubrieron siete segmentos peptídicos con secuencias de aminoácidos típicas de hélices α. Utilizando microscopía electrónica y cristalografía de rayos X, los investigadores determinaron que la bacteriorrodopsina posee siete hélices α, que son aproximadamente perpendiculares a la membrana (Fig. 11C).

Fluidez de la membrana

La fluidez de la membrana es una de las suposiciones más importantes del modelo de mosaico fluido de la estructura de la membrana. Una medida de la fluidez de la membrana, la capacidad de los componentes de la membrana para difundir lateralmente, puede demostrarse cuando se fusionan las células de dos especies diferentes para formar un **heterocariota** (Fig. 11D). (Para estimular la fusión célula-célula se utilizan determinados virus o sustancias químicas.) Las proteínas de la membrana plasmática de cada tipo celular pueden rastrearse debido a que están marcadas con diferentes marcadores fluorescentes. Inicialmente, las proteínas se confinan en su propio lado de la membrana heterocariota. Al pasar el tiempo, los dos marcadores fluorescentes se entremezclan, indicando que las proteínas se mueven libremente en la bicapa lipídica.

Otra técnica, denominada **recuperación fluorescente tras fotodesaparición** (FRAP), también se utiliza para observar la difusión lateral. Las membranas plasmáticas celulares están marcadas de forma uniforme con un marcador fluorescente. Utilizando un rayo láser, se destruye la fluorescencia (o se «hace desaparecer») de un área pequeña. Utilizando una cámara de vídeo, puede rastrearse en función del tiempo el movimiento lateral de los componentes de la membrana dentro y fuera del área que se ha hecho desaparecer.

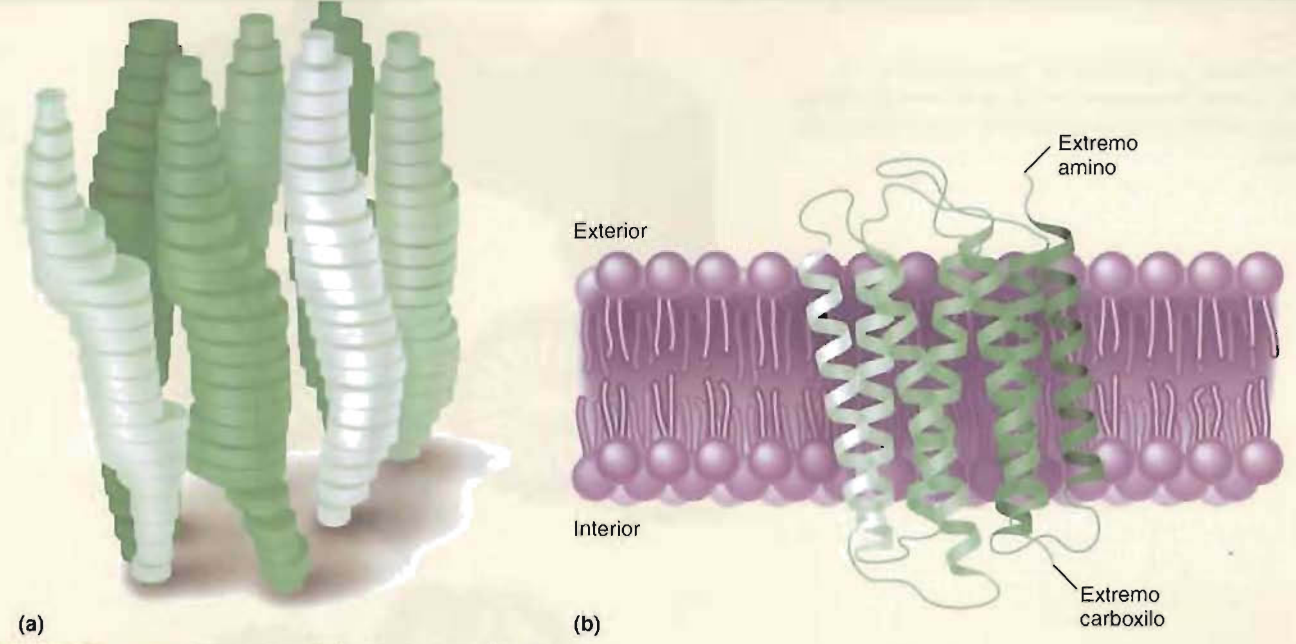


FIGURA 11C Estructura de la bacteriorrodopsina.

Un primer mapa de densidad electrónica de la bacteriorrodopsina (a) creado utilizando micrografías electrónicas de la proteína cristalizada que contribuyó finalmente a conseguir modelos más detallados (b) que fueron posibles gracias a métodos más sofisticados.

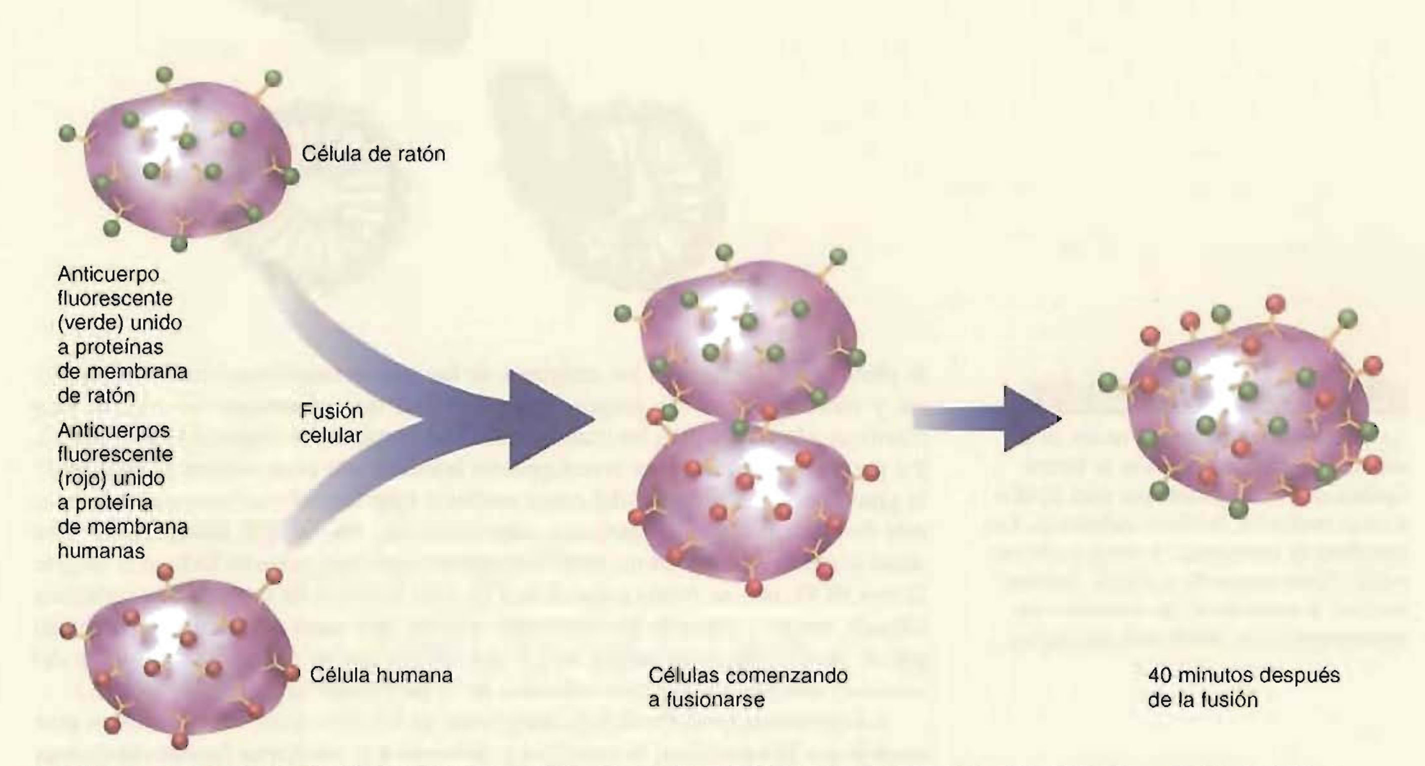


FIGURA 11D Fusión de células de ratón y células humanas marcadas con fluorescencia para formar un heterocariota.

Este experimento demuestra que las membranas son fluidas y que las proteínas pueden moverse libremente dentro de la bicapa lipídica. Los inhibidores metabólicos no lentifican el movimiento de las proteínas, pero sí lo hace el descenso de la temperatura por debajo de 15 °C.

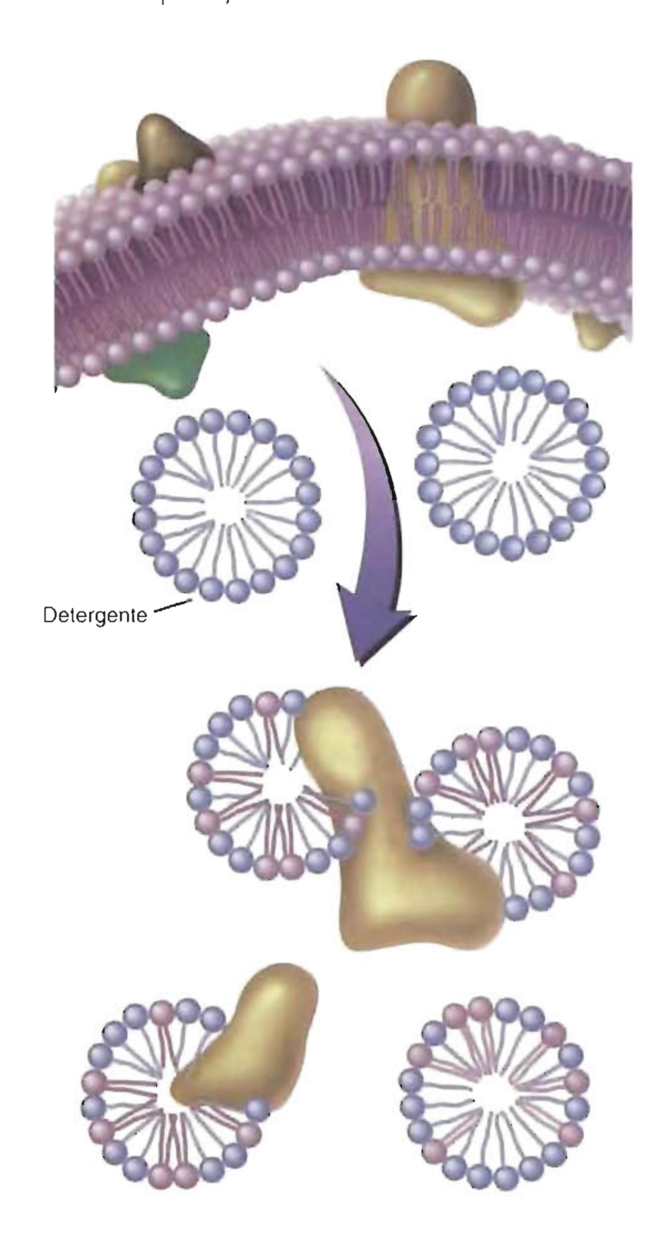


FIGURA 11-24

Solubilización por detergentes de las proteínas de la membrana.

Cuando se rompe la membrana de forma mecánica, el detergente forma un complejo con las porciones hidrófobas de las proteínas integrales de membrana y los lípidos de la membrana.

CONCEPTOS CLAVE 11.7

La característica estructural básica de la estructura de la membrana es la bicapa lipídica que está formada por fosfolípidos y otras moléculas lipídicas anfipáticas. Las proteínas de membrana, la mayoría de las cuales flotan dentro de la bicapa lipídica, realizan la mayoría de las funciones que se atribuyen a las membranas biológicas.

la glucoforina constituyen los antígenos de los grupos sanguíneos ABO y MN. (Éstos y otros antígenos de grupos sanguíneos son marcadores que se utilizan para clasificar a la sangre para las transfusiones y el trasplante de órganos.) Sin embargo, y a pesar de unos esfuerzos investigadores intensos, aún no se conoce la función de la glucoforina. La *proteína del canal aniónico* (que también se denomina banda 3) está formada por dos subunidades idénticas, cada una de 929 aminoácidos. Este canal proteico desempeña un papel importante en el transporte de CO_2 en la sangre. El ion HCO_3^- que se forma a partir de CO_2 con la ayuda de la anhidrasa carbónica difunde dentro y fuera de los eritrocitos a través del canal aniónico intercambiado por el ion Cl^-. (El intercambio de Cl^- por HCO_3^-, que se denomina *desviación del cloruro*, conserva el potencial eléctrico de la membrana celular del eritrocito.)

Las proteínas periféricas de la membrana de los eritrocitos, constituídas en gran medida por la espectrina, la anquirina y la banda 4.1, participan fundamentalmente en la conservación de la forma bicóncava singular de la célula. Esta forma permite la rápida difusión del O_2 por toda la célula. (Ninguna molécula de hemoglobina se encuentra a una distancia superior a 1 μm de la superficie celular.) La *espectrina* es un tetrámero, formado por dos dímeros $\alpha\beta$, que se une a la anquirina y a la banda 4.1. La *anquirina* es un polipéptido globular grande (215 kD) que une la espectrina a la proteína del canal aniónico. (Éste es un enlace de conexión entre el citoesqueleto del

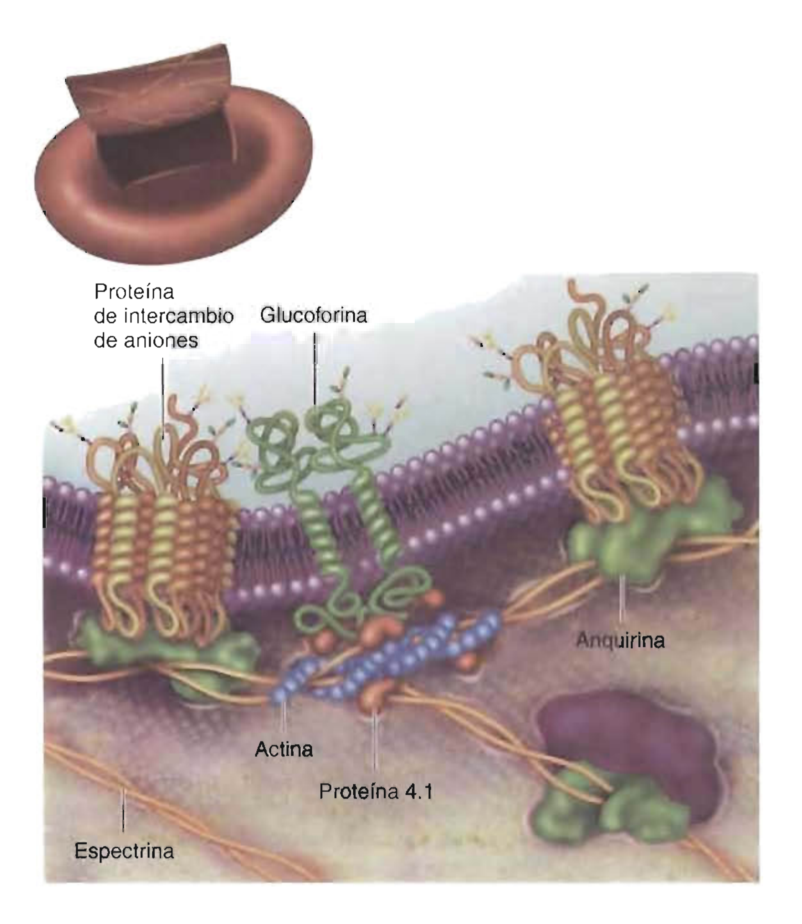


FIGURA 11-25
Proteínas integrales de membrana de los eritrocitos.
Las proteínas integrales de membrana glucoforina y la proteína de intercambio aniónico son componentes de una red de enlaces que conectan la membrana plasmática con elementos estructurales del citoesqueleto (p. ej., actina, espectrina, proteína 4.1 y anquirina).

eritrocito y su membrana plasmática.) La *banda 4.1* se une a la espectrina y a los *filamentos de actina* (un componente del citoesqueleto que se encuentra en muchos tipos celulares). Debido a que la banda 4.1 también se une a la glucoforina, liga también el citoesqueleto y la membrana.

Función de la membrana

En los seres vivos las membranas participan en un conjunto impresionante de funciones. Entre las más importantes están el transporte de moléculas e iones dentro y fuera de las células y orgánulos, y la unión de hormonas y otras biomoléculas. Cada uno de estos temas se considera brevemente. Posteriormente se presenta una descripción de la endocitosis mediada por el receptor.

TRANSPORTE DE MEMBRANAS Los mecanismos de transporte de membrana son vitales para los seres vivos. Los iones y las moléculas se mueven constantemente a través de las membranas plasmáticas y a través de las membranas de los orgánulos. Este flujo debe estar cuidadosamente regulado para satisfacer las necesidades metabólicas de cada célula. Por ejemplo, la membrana plasmática celular regula la entrada de moléculas de nutrientes y la salida de los productos de desecho. Además, regula las concentraciones iónicas inracelulares. Debido a que las bicapas lipídicas son generalmente impenetrables por los iones y las sustancias polares en las membranas celulares, deben estar insertados componentes específicos de transporte. Se presentan varios ejemplos de estas estructuras que se denominan proteínas de transporte o permeasas.

Los mecanismos de transporte biológico se clasifican de acuerdo con sus requerimientos energéticos. En la Figura 11-26 se representan los principales tipos de transporte biológico. En el **transporte pasivo**, no hay un aporte de energía. Por el contrario, el **transporte activo** requiere energía para transportar las moléculas en contra de un gradiente de concentración.

En la **difusión simple**, cada soluto, impulsado por el movimiento molecular aleatorio, se mueve a favor de su gradiente de concentración (es decir, desde una

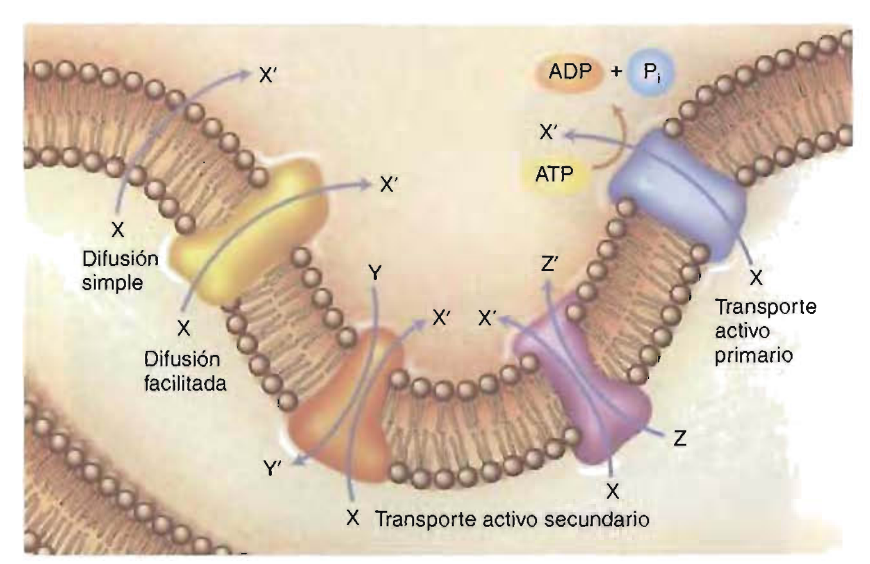


FIGURA 11-26

Transporte a través de las membranas.

Los principales procesos de transporte son la difusión simple y facilitada y el transporte activo primario y secundario. En la difusión simple, el transporte espontáneo de un soluto específico está impulsado por su gradiente de concentración. La difusión facilitada es el movimiento de un soluto a favor de su gradiente de concentración a través de una membrana que tiene lugar por canales proteicos o transportadores. En el transporte activo primario y secundario se requiere energía para mover los solutos a través de la membrana en contra de sus gradientes de concentración. En el transporte activo primario, esta energía la proporciona normalmente de forma directa la hidrólisis del ATP. En el transporte activo secundario, los solutos se mueven a través de la membrana por la energía almacenada en un gradiente de concentración de una segunda sustancia que se ha creado por la hidrólisis del ATP o por otros mecanismos generadores de energía.

zona de concentración elevada a una zona de concentración baja). En este proceso espontáneo, hay un movimiento neto de soluto hasta que se alcanza el equilibrio. Como explica la Figura 11-27, un sistema que alcanza el equilibrio queda más desordenado, es decir, aumenta la entropía. Debido a que no hay aporte de energía, el transporte se produce con una variación negativa de energía libre. En general, cuanto mayor es el gradiente de concentración, más rápida es la difusión del soluto. La difusión de los gases como el O_2 y el CO_2 a través de las membranas es proporcional a sus gradientes de concentración. La difusión de moléculas orgánicas depende también del peso molecular y de su liposolubilidad.

En la **difusión facilitada**, el segundo tipo de transporte pasivo, el transporte de determinadas moléculas grandes y con carga se produce a través de canales especiales o transportadores. Los *canales* son proteínas transmembrana con forma de túnel.

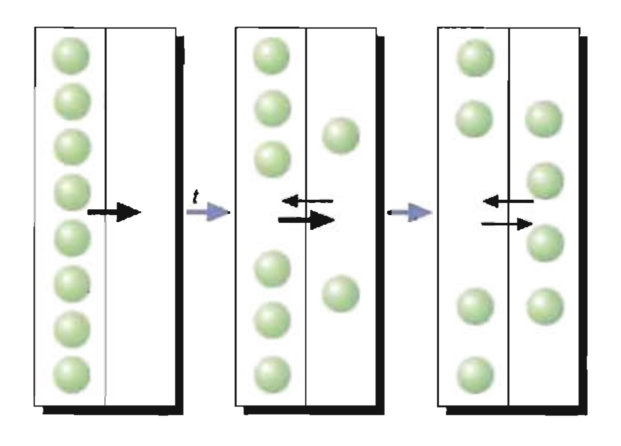


FIGURA 11-27

Difusión simple.

En el tiempo *t*, una cuarta parte de las moléculas presentes a un lado de una membrana semipermeable han difundido al otro lado por el movimiento térmico aleatorio. Finalmente, se alcanza el equilibrio.

Cada tipo está diseñado para el transporte de un soluto específico. Muchos canales están regulados de forma química o por el voltaje. Los canales regulados de forma química se abren o cierran en respuesta a una señal química específica. Por ejemplo, un *canal de Na^+ con apertura química* en el complejo receptor nicotínico de acetilcolina (que se encuentra en las membranas plasmáticas de las células musculares) se abre cuando se une la acetilcolina. El Na^+ se precipita al interior de la célula y cae el potencial de membrana. Debido a que el potencial de membrana es un gradiente eléctrico a través de la membrana (véase la pág. 76), un descenso del potencial de membrana supone una *despolarización* de la membrana. Las despolarizaciones locales que produce la acetilcolina conducen a la apertura de los canales de Na^+ de las cercanías (éstos se denominan *canales de Na^+ con apertura de voltaje*). La *repolarización*, el restablecimiento del potencial de membrana, comienza con la difusión de los iones K^+ fuera de la célula a través de *canales de K^+ con apertura de voltaje*. (La difusión de los iones K^+ fuera de la célula hace menos positivo al interior, es decir, más negativo.)

Otra forma de difusión facilitada implica proteínas de membrana denominadas *transportadores* (algunas veces se denominan *transportadores pasivos*). En el transporte mediante transportadores, un soluto específico se une al transportador en un lado de la membrana y produce un cambio conformacional en el transportador. A continuación, el soluto se traslada a través de la membrana y se libera. El *transportador de glucosa* de los eritrocitos es el ejemplo mejor caracterizado de transportador pasivo. Permite que difunda la D-glucosa a través de la membrana de los eritrocitos para que se utilice en la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato. La difusión facilitada aumenta la velocidad a la que se transportan determinados solutos a favor de sus gradientes de concentración. Este proceso no puede producir un aumento neto de la concentración de soluto a un lado de la membrana.

Las dos formas de transporte activo son el primario y el secundario. En el *transporte activo primario*, el ATP proporciona la energía. Las enzimas transmembrana que hidrolizan el ATP utilizan la energía procedente del ATP para impulsar el transporte de iones o moléculas. La bomba Na^+-K^+ (que también se denomina Na^+-K^+ ATPasa) es un ejemplo destacado de transportador primario. (Para mantener el volumen celular normal y el potencial de membrana se requieren los gradientes de Na^+ y K^+. Consúltese el Recuadro de Interés Especial 3.1.) En el *transporte activo secundario*, el gradiente de concentración que genera el transporte activo primario se acopla para mover sustancias a través de las membranas. Por ejemplo, el gradiente de Na^+ creado por la bomba Na^+-K^+ ATPasa se utiliza en las células tubulares renales y las células intestinales para transportar la D-glucosa (Fig. 11-28).

CONCEPTOS CLAVE 11.8

Los mecanismos de transporte de membrana se clasifican en pasivos o activos de acuerdo con su requerimiento energético. En el transporte pasivo, los solutos se mueven a través de las membranas a favor de su gradiente de concentración. En el transporte activo, se requiere la energía que deriva de forma directa o indirecta de la hidrólisis del ATP u otras fuentes energéticas para mover un ion o molécula en contra de su gradiente de concentración.

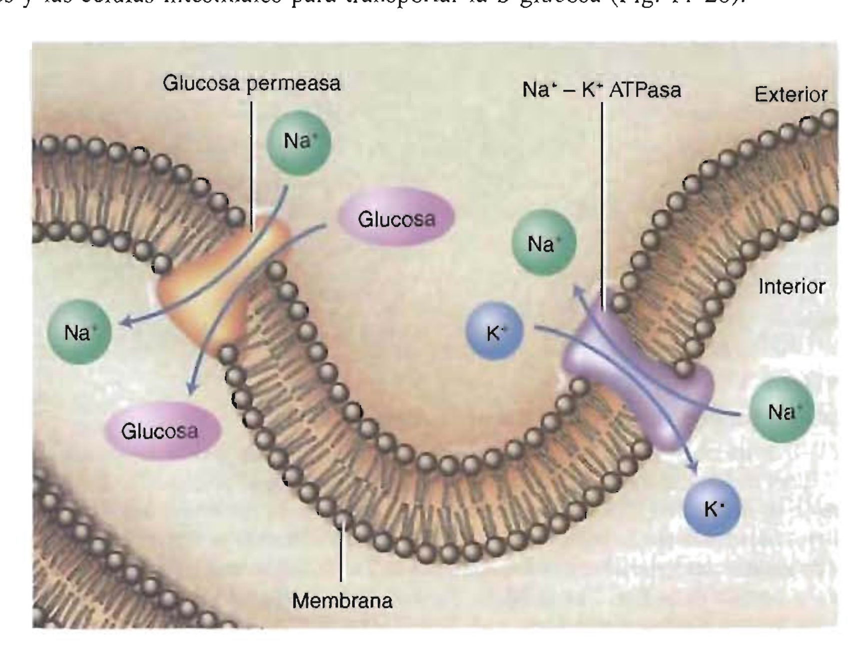


FIGURA 11-28

La Na^+-K^+ ATPasa y el transporte de glucosa.

La Na^+-K^+ ATPasa mantiene el gradiente de Na^+ esencial para mantener el potencial de membrana. En determinadas células, el transporte de glucosa depende del gradiente de Na^+. La glucosa permeasa transporta tanto el Na^+ como la glucosa. Sólo cuando están unidos ambos sustratos cambia la proteína su conformación, iniciándose así el transporte.

El deterioro de los mecanismos de transporte de membrana puede tener consecuencias muy serias. Uno de los ejemplos mejor comprendidos de transporte disfuncional se produce en la fibrosis quística. La **fibrosis quística** (FQ), una enfermedad autosómica recesiva fatal, está producida por la desaparición o el defecto de una glucoproteína de la membrana plasmática denominada **regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ)**. El RTFQ (Fig. 11-29), que actúa como un canal de cloruro en las células epiteliales, es un miembro de una familia de proteínas denominadas transportadores ABC. (Los transportadores ABC se llaman así debido a que contienen un segmento polipeptídico denominado «*A*TP *b*inding *c*assette»: Casete de unión de ATP.) El RTQF contiene cinco dominios. Dos dominios, cada uno de ellos con seis hélices que abarcan la membrana, forman el poro del canal de Cl^-. El transporte de cloruro a través del poro está controlado por los otros tres dominios (todos los cuales se encuentran en el lado citoplásmico de la membrana plasmática). Dos son dominios de unión de nucleótidos que unen e hidrolizan ATP y utilizan la energía liberada para impulsar cambios conformacionales del poro. El dominio regulador (R) contiene varios residuos de aminoácido que deben fosforilarse por la proteína quinasa dependiente del cAMP para que se produzca el transporte de cloruro. (Véase la Sección 16.4 donde se trata la transducción de señales con participación del cAMP.)

El canal de cloruro es vital para la absorción adecuada de sal (NaCl) y agua a través de las membranas plasmáticas de las células epiteliales que revisten los conductos y los túbulos en los tejidos como los pulmones, el hígado, el intestino delgado y las glándulas sudoríparas. El transporte de cloruro tiene lugar cuando moléculas señalizadoras abren los canales de Cl^- TRFQ en la superficie apical (superior) de las células epiteliales. En la FQ el fallo de los canales TRFQ da lugar a la retención de Cl^- dentro de las células. Se forma un moco grueso u otras secreciones debido a que la presión osmótica produce una captura excesiva de agua. Las características más

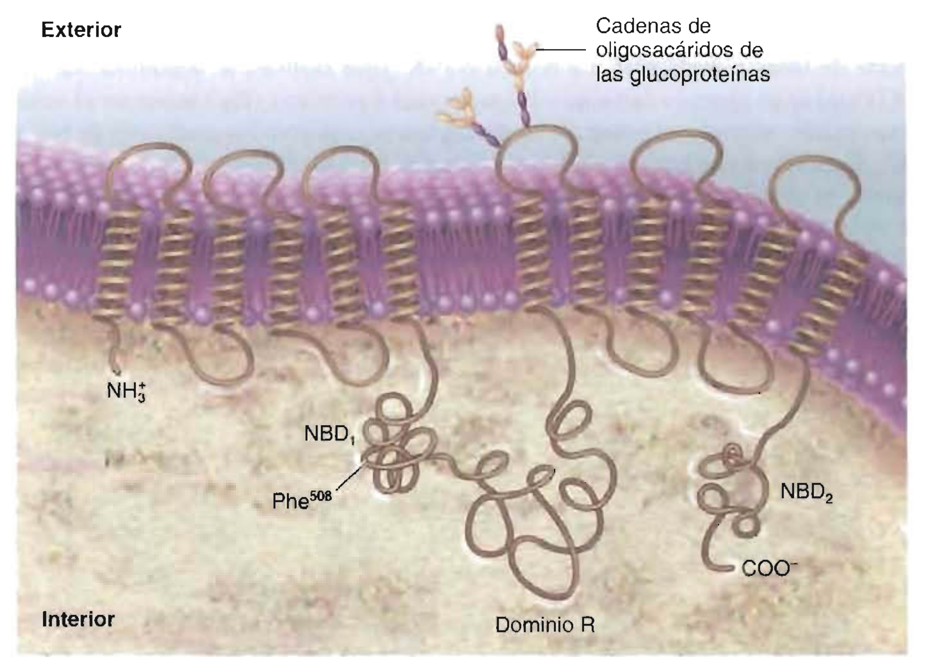


FIGURA 11-29

Regulador transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ).

El RTFQ es un canal de cloruro formado por dos dominios (cada uno de los cuales con seis hélices que se expanden por la membrana) que constituyen el poro de Cl^-, dos dominios de unión de nucleótido (NBD) y un dominio regulador (R). El transporte de Cl^- a través del poro, impulsado por la hidrólisis del ATP, se produce cuando se fosforilan residuos de aminoácido específicos en los dominios R. La mutación más frecuente que produce FQ es la pérdida de la Phe^{508} en el NBD_1. No está clara aún la relación estructural precisa entre las hélices que forman el poro.

evidentes de la FQ son la enfermedad pulmonar (obstrucción del flujo aéreo e infecciones bacterianas crónicas) e insuficiencia pancreática (producción alterada de enzimas digestivas que pueden dar lugar a deficiencias nutritivas graves). En la mayoría de los pacientes con FQ, el defecto del TRFQ es una mutación con pérdida de la Phe^{508}, que produce un plegado proteico erróneo que impide el procesamiento y la inserción de la proteína mutante en la membrana plasmática. Entre las causas menos frecuentes de FQ (se han descrito unas 100) se encuentran una formación defectuosa de moléculas de mRNA de TRFQ, mutaciones en los dominios de unión del nucleótido que dan lugar a una unión o una hidrólisis del ATP ineficaces, y mutaciones en los dominios que forman el poro, lo cual produce una reducción del transporte de cloruro.

Los pacientes con FQ pocas veces sobrevivían a la infancia antes de introducirse los tratamientos modernos. Los antibióticos (que se utilizan principalmente en el tratamiento de las infecciones pulmonares) y la comercialización de las enzimas digestivas (para sustituir a las enzimas que se producen normalmente en el páncreas) han conseguido que muchos pacientes con FQ puedan llegar a los 30 años. Pero igual que con el gen de la drepanocitosis (véase la pág. 129), los genes defectuosos de la FQ no son infrecuentes. Con una incidencia aproximada de 1 de cada 2500 personas blancas, la FQ es la enfermedad genética fatal más frecuente en esta población. Los experimentos recientes con ratones «knock-out» indican que los portadores del gen mutante están protegidos de las enfermedades mortales debidas a la diarrea. (Los animales «knock-out» son razas que contienen una copia del gel defectuoso en todas sus células.) Estos animales pierden de forma significativa menos líquido corporal debido a que tienen un número reducido de canales funcionales de cloruro. Se sospecha que los portadores de FQ (personas que sólo tienen una copia de un gen FQ defectuoso) son menos susceptibles a una diarrea mortal (p. ej, cólera) por la misma razón. El gen FQ no se disemina más allá de Europa Occidental (p. ej., la incidencia entre los asiáticos orientales es aproximadamente de 1 por 100 000) debido a que los portadores de FQ segregan ligeramente más sal en su sudor que los no portadores. (Las células epiteliales que recubren las glándulas salivales no pueden reabsorber el cloruro de forma eficaz.) En los climas más cálidos, donde la sudación es una característica común de la vida diaria, la pérdida excesiva de sal de forma crónica es mucho más peligrosa que la exposición intermitente a los microorganismos que producen la diarrea.

PREGUNTA 11.6

Sugiera el mecanismo o mecanismos por los que se transporta cada una de las sustancias siguientes a través de las membranas celulares:

a. CO_2
b. Glucosa
c. Cl^-
d. K^+
e. Moléculas de grasa
f. α-Tocoferol

PREGUNTA 11.7

Describa los tipos de interacciones no covalentes que estimulan la estabilidad y las propiedades funcionales de las membranas biológicas.

PREGUNTA 11.8

Los mecanismos de transporte se clasifican frecuentemente de acuerdo con el número de solutos que se transportan y la dirección del transporte de los solutos.

1. Los uniportes transportan un soluto.
2. Los simportes transportan dos solutos diferentes de forma simultánea en la misma dirección.
3. Los antiportes transportan dos solutos diferentes en direcciones opuestas.

Tras examinar los ejemplos de transporte que se han presentado en este capítulo, determine a cuáles de las categorías anteriores pertenece cada uno.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 11.3. Las acuaporinas

Una característica básica de las células es la capacidad de mover rápidamente el agua a través de las membranas celulares en respuesta a las variaciones de la presión osmótica. Durante mucho tiempo, un gran número de investigadores han supuesto que la responsable de la mayoría del flujo de agua era la difusión simple. En una gran variedad de tipos celulares, como los eritrocitos y determinadas células renales, está claro que el flujo de agua es extraordinariamente rápido. Al comienzo de los años 1990, se caracterizó la primera de una serie de proteínas canales de agua que actualmente se denominan **acuaporinas**. La acuaporina-1 (AQP-1), que se encontró inicialmente en la membrana de los eritrocitos y luego en las células tubulares renales, es un complejo proteico intrínseco de membrana que facilita el flujo de agua, con una concentración de más de 10^9/moléculas/canal. Se han encontrado acuaporinas en casi todos los seres vivos, con al menos 10 formas diferentes en los mamíferos. Las pruebas experimentales más recientes sugieren que el flujo de agua está regulado a través de los canales de acuaporina. Por ejemplo, tres acuaporinas de mamífero parecen estar reguladas por el pH. Otras están reguladas por reacciones de fosforilación o por la unión de moléculas señalizadoras específicas. En 1993 se descubrió que la causa de una forma poco frecuente de **diabetes insípida nefrogénica** hereditaria (una enfermedad autosómica recesiva en la que los riñones de las personas afectadas no puede producir una orina concentrada) era una mutación del gen de la AQP-2. La AQP-2 mutada no responde a la hormona antidiurética vasopresina (Cuadro 16-1, pág. 544).

De todas las acuaporinas, la AQP-1, un homotrímero, es la mejor conocida. Cada subunidad es un polipéptido que contiene 269 residuos de aminoácido que forman un poro que transporta agua con seis dominios de hélice α que se expanden por la membrana y que están conectados por cinco bucles (Fig. 11E). En el monómero funcional, los dos bucles que poseen una secuencia Asn-Pro-Ala (NPA) se encuentran en el centro para formar el lugar de unión del agua. El poro, que tiene 3 Å, sólo es ligeramente mayor que la molécula de agua (2.8 Å). Como se presenta en la Figura 11F, las secuencias NPA están yuxtapuestas en el canal. El movimiento sólo de moléculas de agua y no de especies más pequeñas, como el H^+, a través del canal se cree que es posible por la formación de enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua y los residuos de Asn de las dos secuencias NPA. El entorno hidrófobo creado por los residuos de aminoácido sobre las otras hélices que forman el poro produce la rotura de los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua al moverse en fila india hacia la parte más estrecha del poro. También obliga al átomo de oxígeno de cada molécula de agua a orientarse hacia los residuos de Asn. Cuando la molécula de agua se acerca al estrechamiento de 3 Å del poro, su átomo de oxígeno secuencialmente forma y rompe enlaces de hidrógeno con las cadenas laterales de los dos residuos de Asn. La ausencia de otras parejas para los enlaces de hidrógeno evita el transporte de protones.

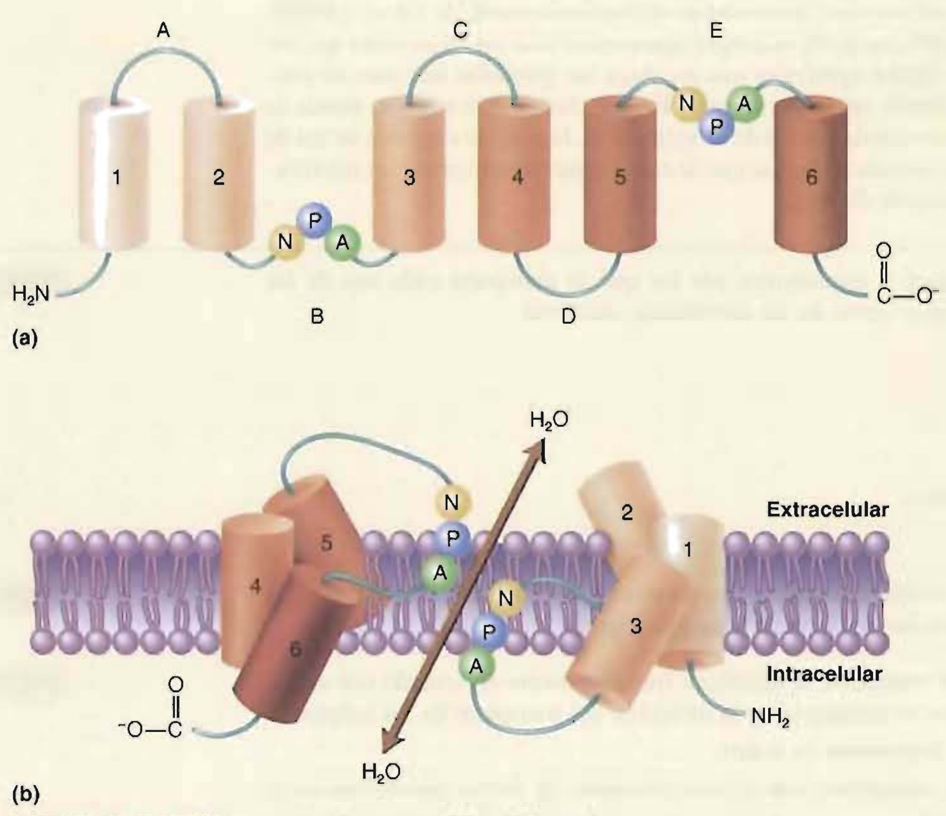
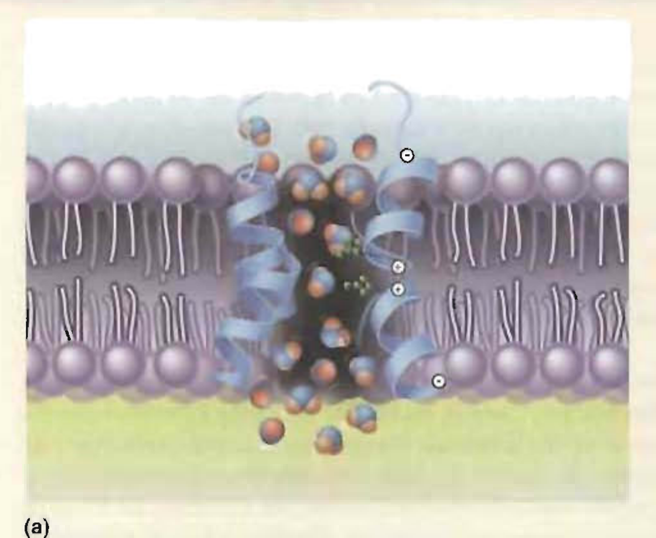
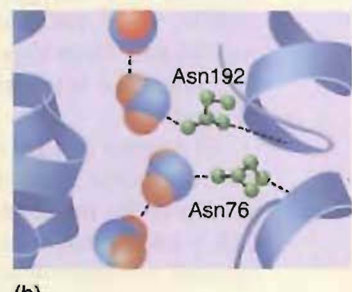
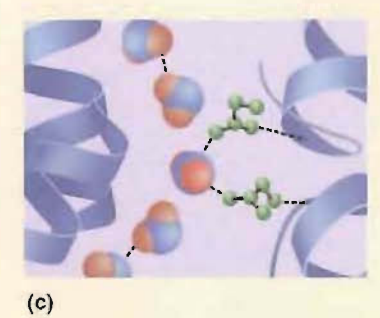


FIGURA 11E Representación esquemática del monómero de acuaporina.
Cada monómero de AQP-1 posee seis hélices α que se expanden por la membrana y que están conectadas por cinco bucles (a). En el monómero funcional, los dos bucles que contienen las secuencias NPA forman el lugar selectivo del agua (b).







(a) (b) (c)

FIGURA 11F Transporte de agua a través del monómero AQP-1.

Las moléculas de agua se mueven a través del poro en fila india. Al acercarse cada molécula a la constricción del poro queda forzada a orientar su átomo de oxígeno de forma que pueda formar y romper enlaces de hidrógeno con las cadenas laterales de los dos residuos de Asn. (a) Dentro del poro del monómero de acuaporina los bucles B y E (véase la Fig. 11D) crean un ambiente electrostático positivo en el que el átomo de oxígeno de cada molécula de agua se orienta hacia los dos residuos de Asn. (b) y (c) La formación y rotura secuencial de los enlaces de hidrógeno entre el oxígeno de las moléculas de agua y las cadenas laterales de los dos residuos de Asn participan en el movimiento del agua a través del poro.

RECEPTORES DE MEMBRANA Los receptores de membrana desempeñan un papel esencial en el metabolismo de todos los seres vivos. Proporcionan mecanismos por medio de los cuales las células controlan y responden a las variaciones de su entorno. En los organismos multicelulares la unión de las señales químicas, como las hormonas y los neurotransmisores de los animales, a los receptores de membrana es un enlace esencial en la comunicación intracelular. Otros receptores participan en el reconocimiento célula-célula o la adhesión. Por ejemplo, los linfocitos realizan un papel básico en la función del sistema inmunitario de identificación y posterior destrucción de las células extrañas o infectadas por virus cuando se unen de forma transitoria a las superficies celulares de todo el cuerpo. De manera semejante, la capacidad de las células para reconocer y adherirse a otras células adecuadas de un tejido es de importancia crucial en muchos procesos de los organismos, como el desarrollo embrionario o fetal.

La unión de un ligando a un receptor de membrana da lugar a un cambio conformacional, que posteriormente produce una respuesta específica previamente programada. Algunas veces, las respuestas del receptor parecen ser relativamente directas. Por ejemplo, la unión de la acetilcolina a un receptor de acetilcolina abre un canal catiónico. Sin embargo, la mayoría de las respuestas son complejas. Actualmente, el ejemplo de la función de receptor de membrana en el que más se ha investigado es la endocitosis mediada por el receptor de LDL, que se explica a continuación.



El receptor de las lipoproteínas de baja densidad es responsable de que las células capten las lipoproteínas que contienen colesterol. Como suele suceder, este receptor se descubrió durante la investigación de una enfermedad hereditaria, en este caso, la *hipercolesterolemia familiar* (HF). El receptor de LDL fue descubierto por Brown y Goldstein cuando investigaban la captación de las LDL por los fibroblastos de los pacientes con HF. El defecto bioquímico que produce la HF se identificó como mutaciones del gen del receptor de LDL.

Los pacientes con HF poseen concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol debido a que no tienen receptores de LDL, o son defectuosos. (Recuerde que las LDL

transportan el colesterol a los tejidos.) Los *heterocigotos* heredan un gen defectuoso del receptor de LDL. Como consecuencia de ello, poseen la mitad de receptores funcionales de LDL. Con concentraciones de colesterol sanguíneo de 300-600 mg/100 mL no es sorprendente que los heterocigotos tengan infartos de miocardio antes de los 40 años. También padecen *xantomas* (depósitos de colesterol en la piel) a los 30 años.

Con una frecuencia en la población de 1 de cada 500, los heterocigotos de HF representan una de las anomalías genéticas más comunes en el ser humano. Por el contrario, los *homocigotos* (personas que han heredado un gen defectuoso del receptor de LDL de cada progenitor) son poco frecuentes (aproximadamente 1 entre un millón). Estos pacientes poseen valores de colesterol plasmático de 650-1200 mg/100 mL. Tanto los xantomas como los infartos de miocardio se producen durante la infancia o la primera adolescencia. La muerte se produce antes de los 20 años de edad.

El receptor de LDL es una glucoproteína compleja (Fig. 11-30) que se encuentra en la superficie de muchas células. Cuando las células necesitan colesterol para la síntesis de las membranas o de las hormonas esteroideas, producen receptores de LDL y los insertan en regiones discretas revestidas de la membrana plasmática. (Las regiones revestidas de la membrana normalmente constituyen alrededor del 2% de la superficie celular. La proteína *clatrina*, que posee una estructura singular denominada *trisquelión*, es el principal componente proteico de las regiones revestidas. Forman una especie de polímero durante las fases iniciales de la endocitosis.) El número de receptores por célula varía de 15 000 a 70 000, dependiendo del tipo celular y de los requerimientos de colesterol.

El proceso de endocitosis mediada por el receptor de LDL, tal y como se observa en los fibroblastos, se produce en varios pasos (Fig. 2-22a). Comienza después de varios minutos tras la unión de las LDL a los receptores de LDL. La región revestida que rodea al receptor unido, que se denomina *hoyo revestido*, se encoge y se trans-

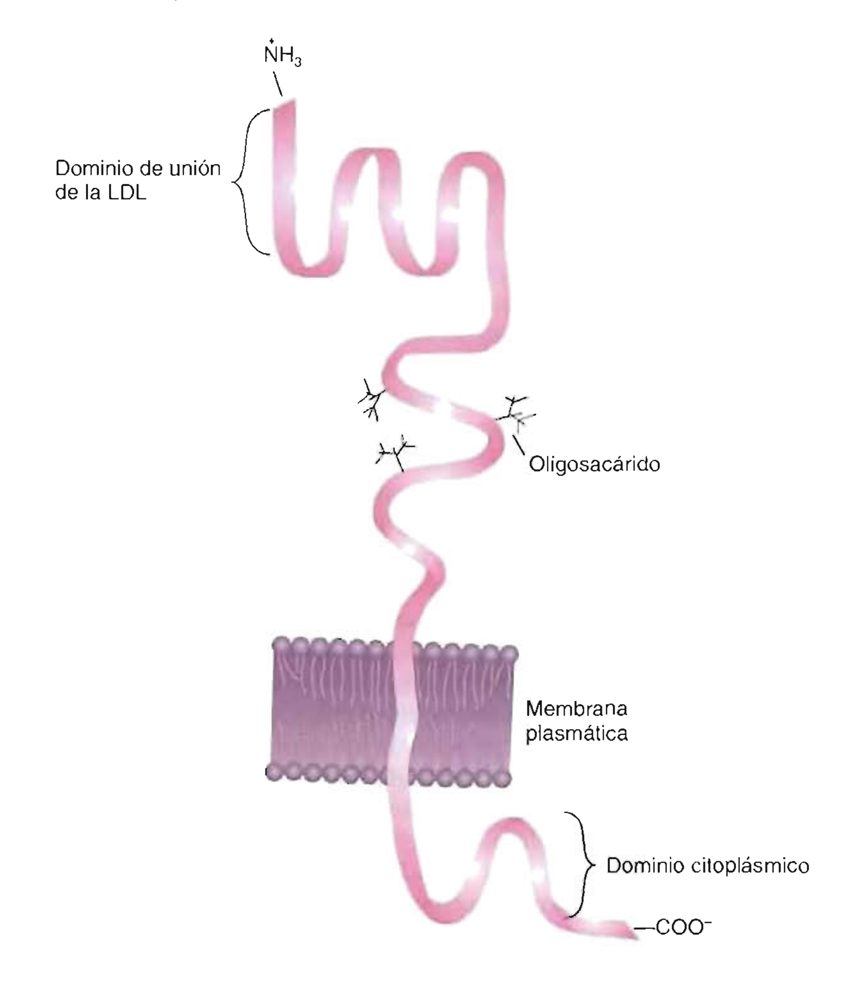


FIGURA 11-30
Receptor de LDL.
El dominio citoplásmico del receptor de LDL desempeña un papel esencial en la formación de los hoyos revestidos, una característica importante de la endocitosis mediada por el receptor. Una vez unida la LDL al receptor, ambos se internalizan rápidamente.

forma en una *vesícula revestida*. A continuación se forman las *vesículas sin revestir* al despolimerizarse la clatrina. Antes de que las vesículas sin revestir se fusionen con los lisosomas, las LDL se desacoplan de los receptores de LDL al cambiar el pH de 7 a 5. (Este cambio lo crean unas bombas de protones impulsadas por el ATP en la vesícula de membrana.) Los receptores de LDL se reciclan a la membrana plasmática y las vesículas que contienen las LDL se fusionan con los lisosomas. A continuación, se degradan las proteínas a sus aminoácidos y los ésteres de colesterol se hidrolizan a colesterol y ácidos grasos. En condiciones normales, la endocitosis mediada por el receptor de LDL es un proceso muy regulado. Por ejemplo, el colesterol (o un derivado) suprime la actividad HMG-CoA reductasa, la enzima que cataliza el paso que controla la velocidad de la síntesis de colesterol (Capítulo 12). Además, el colesterol estimula la actividad ACAT y disminuye la síntesis de los receptores de LDL. Los defectos genéticos que producen HF impiden que las células afectadas obtengan colesterol suficiente de las LDL. El defecto más habitual es la ausencia de síntesis del receptor. Otros defectos son un procesamiento intracelular ineficaz de los receptores recién sintetizados, defectos de la unión de las LDL al receptor, y la incapacidad de los receptores para agruparse en hoyos revestidos.

RESUMEN

1. Los lípidos son un grupo heterogéneo de biomoléculas solubles en disolventes apolares. Pueden dividirse en las siguientes clases: ácidos grasos y derivados, triacilgliceroles, ésteres de ceras, fosfolípidos, lipoproteínas, esfingolípidos e isoprenoides.
2. Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos que se encuentran principalmente en los triacilgliceroles, los fosfolípidos y los esfingolípidos. Los eicosanoides son un grupo de moléculas semejantes a las hormonas que derivan de los ácidos grasos de cadena larga. Los principales eicosanoides son las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos.
3. Los triacilgliceroles son ésteres de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos. Los triacilgliceroles, que son sólidos a temperatura ambiente (es decir, que poseen fundamentalmente ácidos grasos saturados) se denominan grasas. Aquellos que son líquidos a temperatura ambiente (esto es, que poseen un contenido elevado de ácidos grasos insaturados) se denominan aceites. Los triacilgliceroles, la forma principal de almacenamiento y transporte de los ácidos grasos, son formas de almacenamiento de energía importante en los animales. En los vegetales almacenan energía en las frutas y las semillas.
4. Los fosfolípidos son componentes estructurales de las membranas. Hay dos clases de fosfolípidos: fosfoglicéridos y esfingomielinas.
5. Los esfingolípidos también son componentes importantes de las membranas de animales y vegetales. Contienen un aminoalcohol de cadena larga. En los animales, este alcohol es la esfingosina. En los esfingolípidos de los vegetales se encuentra la fitoesfingosina. Los glucolípidos son esfingolípidos que poseen grupos de hidratos de carbono y no contienen fosfato.
6. Los isoprenoides son moléculas que contienen unidades isopreno repetidas de cinco carbonos. Los isoprenoides son los terpenos y los esteroides.
7. Las lipoproteínas plasmáticas transportan moléculas lipídicas por el torrente sanguíneo de un órgano a otro. Se clasifican de acuerdo con su densidad. Los quilomicrones son lipoproteínas grandes de densidad muy baja que transportan los triacilgliceroles y los ésteres de colesterol del alimento desde el intestino al tejido adiposo y el músculo esquelético. Las VLDL, que se sintetizan en el hígado, transportan los lípidos a los tejidos. Al viajar las VLDL por el torrente sanguíneo, se convierten en LDL. Las LDL son absorbidas por las células tras su unión a los receptores de LDL de la membrana plasmática. Las HDL, que se producen también en el hígado, eliminan el colesterol de la membrana celular y otras partículas lipoproteicas. Las LDL desempeñan un papel importante en la génesis de la aterosclerosis.
8. De acuerdo con el modelo de mosaico fluido, la estructura básica de las membranas es una bicapa lipídica en la que flotan las proteínas. Los lípidos de la membrana (la mayoría de los cuales son fosfolípidos) son los principales responsables de las propiedades de fluidez, permeabilidad selectiva y capacidad de recomponerse de las membranas. Las proteínas de membrana normalmente definen las funciones biológicas de las membranas específicas. Dependiendo de su localización, las proteínas de membrana pueden clasificarse en integrales y periféricas. Entre las funciones en las que participan las membranas se encuentran el transporte y la unión de hormonas y otras señales metabólicas extracelulares.

LECTURAS RECOMENDADAS

Brown, M. S., and Goldstein, J. L., How LDL Receptors Influence Cholesterol and Atherosclerosis, *Sci. Amer.*, 251(5):58-66, 1984.

Gennis, R. B., *Biomembranes: Molecular Structure and Function*, Springer-Verlag, New York, 1989.

Glomset, J. A., Gelb, M.H., and Farnworth, C. C., Prenyl Proteins in Eukaryotic Cells: A New Type of Membrane Anchor, *Trends Biochem. Sci.*, 15:139-142, 1990.

Gounaris, K., and Barber, J., Monogalactosyldiacylglycerol: The Most Abundant Polar Lipid in Nature, *Trends Biochem Sci.*, 8:378-381, 1983.

King, L. S., Yasui, M. and Agre, P., Aquaporins in Health and Disease, *Mol. Med. Today*, 6:60-65, 2000.

Lawn, R.M., Lipoprotein (a) in Heart Disease, *Sci. Amer.*, 266(6):54-60, 1992.

McNeil, P. L., Cell Wounding and Healing, *Amer. Sci.*, 79:222-235, 1991

Nicholls, D. G., and Ferguson, S. J., *Bioenergetics* 2, Academic Press, New York, 1992.

Scanu, A. M., Lawn, R. M., and Berg K., Lipoprotein (a) and Atherosclerosis, *Ann. Intern. Med.*, 115(3):209-218, 1991.

Souter, A. K., Familial Hipercholesterolemia: Mutations in the Gene for the Low Density Lipoprotein Receptor. *Mol. Med. Today*, 1(2):90-97, 1995.

Superko, H. R., The Atherogenic Lipoprotein Profile. *Sci. Med.*, 4(5):36-45, 1997.

Welsh, M. J., and Smith, A. E., Cystic Fibrosis, *Sci. Amer.*, 273(6):52-59, 1995.

Wine, J. T., Cystic Fibrosis Lung Disease, *Sci. Med.*, 6(3):34-43, 1999.

PALABRAS CLAVE

ácido graso esencial, *333*
ácido graso no esencial, *333*
acuaporina, *366*
aterosclerosis, *351*
autocrino, *338*
bicapa lipídica, *353*
carotenoide, *345*
cera, *337*
diabetes insípida nefrogénica, *366*
difusión facilitada, *362*
difusión simple, *361*
eicosanoide, *338*
esfingolípido, *341*
esfingomielina, *340*
esteroide, *346*
fibrosis quística, *364*
fosfoglicérido, *337*
fosfolípido, *337*
glucolípido, *342*
grasa neutra, *335*
grupo acilo, *334*
grupo de cabeza polar, *337*
heterocariota, *358*
isómero *cis*, *332*
isómero *trans*, *332*
isoprenoide, *344*
leucotrieno, *339*
lípido, *332*
lipoproteína de baja densidad, *349*
lipoproteína de densidad elevada, *351*
lipoproteína de densidad muy baja, *349*
modelo del mosaico fluido, *353*
monoinsaturado, *333*
poliinsaturado, *333*
prenilación, *345*
prostaglandina, *338*
quilomicrón, *349*
recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueo, *358*
regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, *364*
terpeno, *344*
terpenoide mixto, *345*
transporte activo, *361*
transporte pasivo, *361*
tromboxano, *339*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina claramente los siguientes términos:
   a. lípido
   b. regulador autocrino
   c. anfipático
   d. sesquiterpeno
   e. bicapa lipídica
   f. prenilación
   g. fluidez
   h. quilomicrón
   i. canal con apertura de voltaje
   j. terpeno
   k. RTFQ
   l. acuaporina
2. Relacione la función principal de las siguientes clases de lípidos
   a. fosfolípidos
   b. esfingolípidos
   c. aceites
   d. ceras
   e. esteroides
   f. carotenoides
3. ¿A qué clase de lípido pertenece cada una de las moléculas siguientes?

$CH_2—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$
$CH—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$
$CH_2—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$

a.

OH

O

b.

$CH_3(CH_2)_{10}CH_2—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$

c.

$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$

d.

$CH_2—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$
$CH—O—C(=O)—(CH_2)_{10}CH_3$
$CH_2—O—P(=O)(O^-)—O—CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

e.

$CH_2-O-P(=O)(O^-)-CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$
$CH-NH-C(=O)-(CH_2)_{10}CH_3$
$HC(OH)-CH=CH-(CH_2)_{12}CH_3$

f.

4. Las esfingomielinas son moléculas anfipáticas. Dibuje la estructura de una esfingomielina típica. Identifique las regiones que son hidrófilas y las que son hidrófobas.

5. ¿Qué función desempeñan las lipoproteínas plasmáticas en el cuerpo humano? ¿Por qué requieren las lipoproteínas plasmáticas un componente proteico para realizar su función?

6. Describa varios factores que influyen sobre la fluidez de la membrana.

7. El modelo de mosaico fluido de la estructura de la membrana ha sido muy útil para explicar el comportamiento de la membrana. Sin embargo, la descripción de la membrana como proteínas flotando en un mar de fosfolípidos es una gran simplificación. Describa algunos componentes de la membrana que tienen restringido su movimiento lateral.

8. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes o frases relativas a los ionófororos son ciertas?
   a. forman canales a través de los que fluyen los iones
   b. requieren energía
   c. los iones pueden difundir en cualquier dirección
   d. pueden dar lugar a puertas de voltaje
   e. transportan todos los iones con igual facilidad

9. Explique la diferencia entre la facilidad del movimiento lateral y la dificultad del movimiento de cambio de localización de una capa a otra en la bicapa de los fosfolípidos.

10. Explique cómo se mueve el potasio a través de una membrana. ¿Cómo se abren los canales? ¿Qué otros iones fluyen durante este proceso?

11. ¿De qué ácido graso proceden la mayoría de los eicosanoides? Relacione varios alteraciones médicas en las que puede parecer ventajoso suprimir su síntesis.

12. ¿En cual de los procesos siguientes no tienen las prostaglandinas una función principal reconocida?
   a. reproducción
   b. digestión
   c. respiración
   d. inflamación
   e. contracción y relajación del músculo liso

13. Clasifique cada uno de los compuestos siguientes como monterpeno, diterpeno, triterpeno, sesquiterpeno o poliperpeno:

$(H_3C)_2C=CH-(CH_2)_2-C(CH_3)=CH-CH_2OH$

a.

CH_3, OH, CH, CH_3, CH_3

b.

CH_3, CH_3

c.

$\left[-CH_2-C(CH_3)=CH-CH_2-\right]_n$

d.

H_3C, CH_3, CH_3, CH_3, CHO, CH_3

e.

f.

14. ¿Cuál de las siguientes funciones no corresponde a los triacilgliceroles?
   a. almacenamiento de energía
   b. aislamiento
   c. absorción de choque
   d. estructura de la membrana

15. ¿Qué moléculas realizan las funciones (de la pregunta 14) que no se atribuyen a los triacilgliceroles?

16. ¿Cómo estimula la función de las HDL la reducción del riesgo de enfermedad arterial coronaria?

17. ¿De cuál de las siguientes propiedades de las membranas no son directamente responsables los lípidos? ¿En qué características participan directamente los lípidos?
   a. permeabilidad selectiva
   b. capacidad de repararse
   c. fluidez
   d. asimetría
   e. transporte activo de iones.

18. Describa de qué forma se transporta la glucosa a través de las membranas en el riñón. ¿Qué tipo de transporte participa?

19. Describa cómo funciona el transporte mediante un transportador. Dé un ejemplo.

20. Compare y contraste los procesos siguientes: transporte activo, transporte pasivo, difusión y difusión facilitada.

21. ¿Cómo se muevan las sustancias siguientes a través de las membranas plasmáticas de las células animales?
   a. CO_2
   b. H_2O
   c. glucosa
   d. Cl^-
   e. Na^+

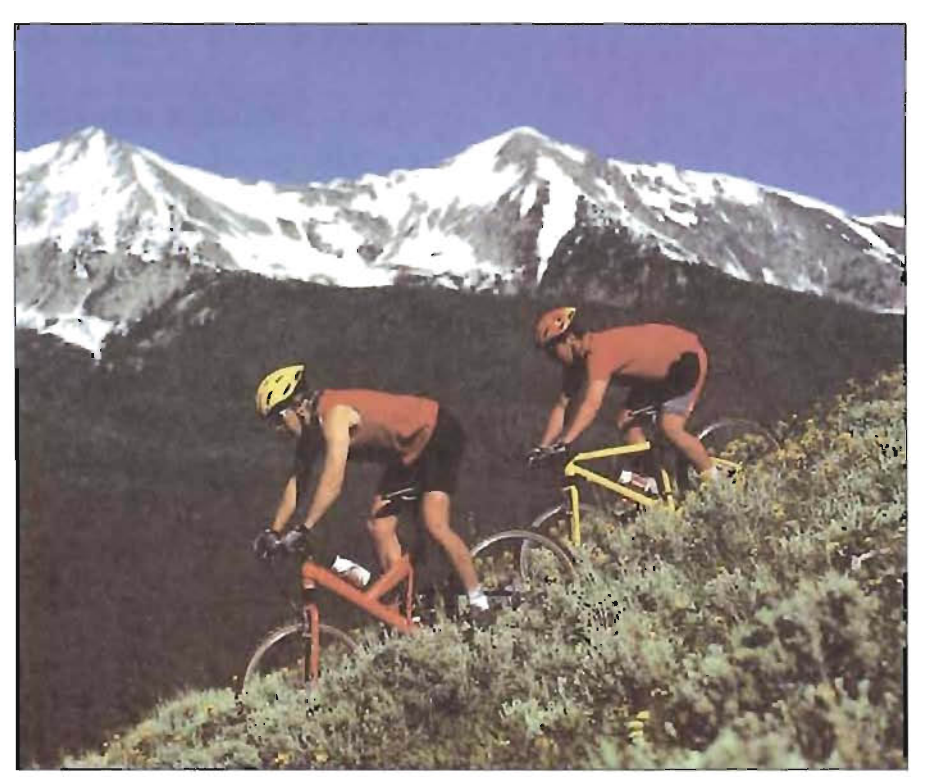
PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Las células animales están encerradas en una membrana celular. De acuerdo con el modelo de mosaico fluido, esta membrana se mantiene por interacciones hidrófobas. Considere las fuerzas de cizalla implicadas. ¿Por qué no se rompe esta membrana cada vez que se mueve el animal?
2. Los antígenos específicos de especie se encuentran sobre las superficies de las células humanas y caninas. Si se forma un heterocariota a partir de membranas de eritrocitos de ambas especies, ¿Qué sucederá con cada conjunto de antígenos? ¿Qué le sugiere esto sobre la naturaleza de las membranas?
3. Sugiera una razón por la que las concentraciones elevadas de LDL son un factor de riesgo de la enfermedad arterial coronaria.
4. Los glucolípidos son lípidos no iónicos que pueden orientarse en bicapas como lo hacen los fosfolípidos. Sugiera una razón por la que pueden realizar esta acción aunque carezcan de un grupo iónico como el de los fosfolípidos.
5. Explique por qué el cambio de localización espontáneo de los fosfolípidos (el movimiento de una molécula de un lado de la bicapa a otro) es tan lenta.
6. Al exponerse las bacterias a temperaturas más elevadas, sus membranas se hacen cada vez más fluidas. ¿Qué molécula podría utilizar un investigador para restaurar las características de fluidez originales del organismo? Considere la anatomía de las bacterias. ¿por qué no sería posible este procedimiento?
7. Los mamíferos del Ártico (p. ej., el reno) poseen concentraciones más elevadas de ácidos grasos insaturados en sus patas y pezuñas que en el resto del cuerpo. Sugiera una razón para este fenómeno. ¿Tiene alguna ventaja para la supervivencia?
8. Explique por qué aumenta la entropía cuando se forma una bicapa lipídica a partir de moléculas de fosfolípidos.

CAPÍTULO DOCE

Metabolismo lipídico

SUMARIO



Las funciones que desempeñan los lípidos en los seres vivos se deben en gran parte a sus estructuras hidrófobas. Como componentes destacados de las membranas celulares, los lípidos son ante todo los responsables de la integridad de cada célula y de los compartimientos intracelulares, que son el rasgo distintivo de los organismos eucariotas. La estructura hidrófoba y muy reducida de los triacilgliceroles los hace muy compactos y una fuente abundante de energía para los procesos celulares. El Capítulo 12 se centra en el metabolismo de las principales clases de lípidos, esto es, de qué forma se sintetizan y degradan y cómo se regulan estos procesos. Se dedica una atención especial al metabolito central del metabolismo lipídico: la acetil-coenzima A. Debido a su papel destacado en varias enfermedades humanas, también se considera el metabolismo del colesterol.

La acetil-CoA, la molécula rica en energía que está constituida por coenzima A y un grupo acetilo, desempeña un papel destacado en el metabolismo de los lípidos. En la mayoría de los procesos metabólicos relacionados con los lípidos, la acetil-CoA es o bien un sustrato o bien un producto. Por ejemplo, la acetil-CoA que no requiere una célula de forma inmediata para la producción de energía se utiliza en la síntesis de los ácidos grasos. Cuando los ácidos grasos se degradan para generar energía, se produce acetil-CoA. De forma semejante, tres moléculas de acetil-CoA se combinan para formar isopentenil pirofosfato, el bloque de construcción de las reacciones de la síntesis de los isoprenoides. Por lo tanto, a partir de la acetil-CoA se sintetizan moléculas tan diversas como los terpenos y los esteroides que se encuentran en los animales y los vegetales. En este capítulo se considera el metabolismos de las principales clases de lípidos: ácidos grasos, triacilgliceroles, fosfolípidos, esfingolípidos e isoprenoides. Además, se revisa el metabolismo de diversos metabolitos importantes de los ácidos grasos, como los eicosanoides y los cuerpos cetónicos. Dada la función esencial de los lípidos en la provisión de energía y de materiales estructurales para las células, a lo largo del capítulo se consideran varios mecanismos de control metabólico.

12.1. ÁCIDOS GRASOS Y TRIACILGLICEROLES

Los ácidos grasos son una fuente de energía importante y eficaz para muchas células. En los animales, la mayoría de los ácidos grasos se obtienen de la alimentación. Por ejemplo, en la alimentación promedio americana, entre un 30 y un 40 % de las calorías que se ingieren las proporcionan las grasas. Las moléculas de triacilgliceroles se digieren dentro de la luz del intestino delgado (Fig. 12-1). Tras mezclarse con las **sales biliares**, las moléculas anfipáticas con propiedades detergentes que se producen en el hígado y se almacenan temporalmente en la vesícula biliar (véase la pág. 412), las moléculas de triacilgliceroles se digieren por la lipasa pancreática para formar ácidos grasos y monoacilgliceroles. Estas últimas moléculas a continuación se transportan a través de la membrana plasmática de las células de la pared intestinal (enterocitos), donde se reconvierten en triacilgliceroles. Los enterocitos combinan los triacilgliceroles con el colesterol del alimento, los fosfolípidos recién sintetizados y las proteínas para formar los quilomicrones (lipoproteínas grandes de baja densidad). Tras su secreción a la linfa (líquido tisular que procede de la sangre), los quilomicrones pasan desde la linfa a la sangre. La mayoría de los quilomicrones se retiran de la sangre por las células del tejido adiposo (adipocitos), los depósitos principales de almacenamiento de lípidos del organismo. La lipoproteína lipasa que se sintetiza en la musculatura cardíaca y esquelética, la glándula mamaria lactante y el tejido adiposo, se transfiere a la superficie del endotelio de los capilares, donde convierte los triacilgliceroles de los quilomicrones en ácidos grasos y glicerol. (La lipoproteína lipasa se activa cuando se une a una de las apoproteínas que componen los quilomicrones. Los triacilgliceroles de las VLDL se degradan también por la lipoproteína lipasa.) Debido a que el tejido adiposo no puede utilizar el glicerol, esta molécula se transporta en la sangre hasta el hígado, donde la enzima glicerol quinasa la convierte en glicerol-3-fosfato. (Los adipocitos carecen de glicerol quinasa. Obtienen el glicerol-3-fosfato a partir de la dihidroxiacetona fosfato, un intermediario glucolítico.) En las células hepáticas, el glicerol-3-fosfato puede utilizarse para la síntesis de triacilgliceroles, fosfolípidos o glucosa.

Dependiendo de las necesidades metabólicas de un animal, los ácidos grasos pueden convertirse en triacilgliceroles, degradarse para generar energía o utilizarse para la síntesis de membranas. Por ejemplo, tras una comida las concentraciones séricas de glucosa son elevadas. La hormona insulina estimula el almacenamiento de triacilgliceroles al inactivar la triacilglicerol lipasa (una enzima que hidroliza los enlaces éster de las moléculas de grasa) en el adipocito, aumentando la síntesis de triacilgliceroles y el transporte mediante las VLDL desde el hígado, y estimulando la actividad lipoproteína lipasa y la captación de ácidos grasos por los adipocitos. Debido a que la glucólisis en los adipocitos proporciona DHAP y, consecuentemente, glicerol-3-fosfato, se forman nuevos triacilgliceroles en el adipocito. Por el con-

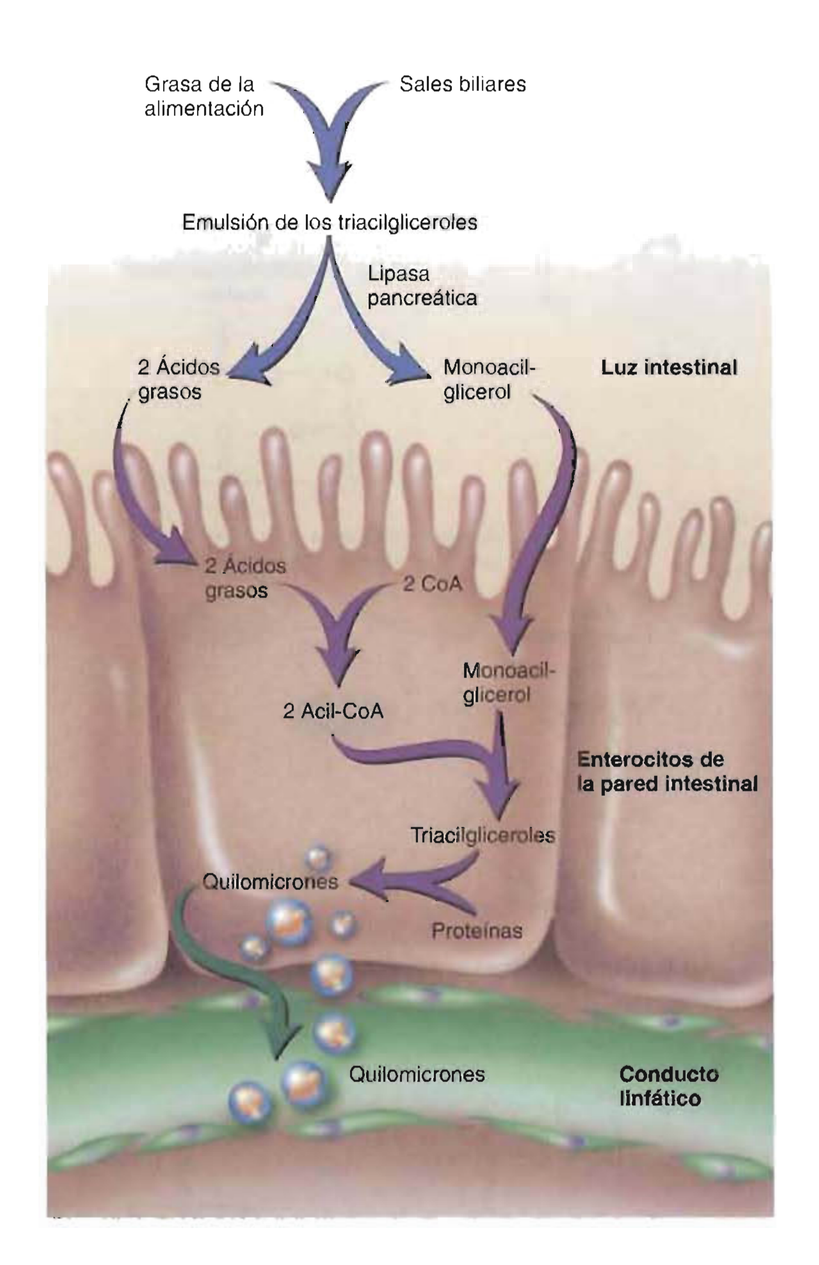


FIGURA 12-1

Digestión y absorción de los triacilgliceroles en el intestino delgado.

Tras emulsionarse (solubilizarse) los triacilgliceroles mediante su mezcla con las sales biliares, son digeridos por las lipasas intestinales, cuyo miembro más importante es la lipasa pancreática. Los productos, ácidos grasos y monoacilglicerol, se transportan a los enterocitos y se vuelven a sintetizar triacilgliceroles. Las moléculas de triacilgliceroles, junto con los fosfolípidos y las proteínas recién sintetizados, se incorporan posteriormente a los quilomicrones. Tras transportarse por exocitosis los quilomicrones a la linfa y luego a la sangre, son captados por los tejidos periféricos.

trario, cuando la glucosa sanguínea es baja (la concentración de insulina desciende y la concentración de glucagón aumenta), se libera la inhibición de la triacilglicerol lipasa y se movilizan las grasas de los adipocitos formándose glicerol y ácidos grasos. Como se ha presentado, el glicerol es un sustrato de la gluconeogénesis. Los ácidos grasos se degradan por las células del cuerpo para generar energía.

En la Figura 12-2 se presenta la síntesis de triacilgliceroles (que se denomina **lipogénesis**). El glicerol-3-fosfato o la dihidroxiacetona fosfato reaccionan secuencialmente con tres moléculas de acil-CoA (ésteres de ácidos grasos y CoASH). Las moléculas de acil-CoA se producen en la siguiente reacción:



(Obsérvese que la reacción se completa debido a la hidrólisis del pirofosfato por la pirofosfatasa.) En la síntesis de triacilgliceroles se forma el ácido fosfatídico mediante dos acilaciones secuenciales del glicerol-3-fosfato o mediante una ruta en la

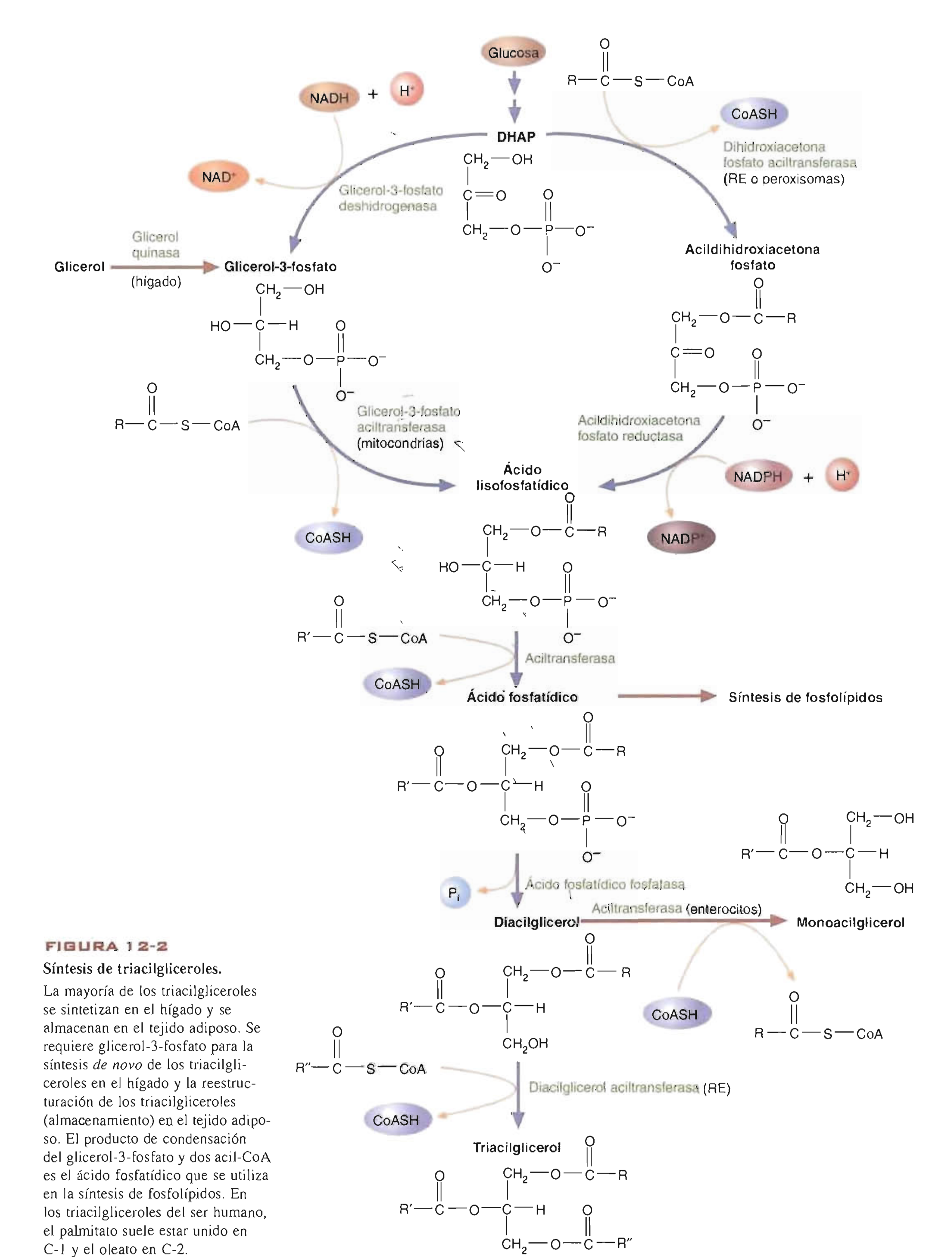


FIGURA 12-2

Síntesis de triacilgliceroles.

La mayoría de los triacilgliceroles se sintetizan en el hígado y se almacenan en el tejido adiposo. Se requiere glicerol-3-fosfato para la síntesis *de novo* de los triacilgliceroles en el hígado y la reestructuración de los triacilgliceroles (almacenamiento) en el tejido adiposo. El producto de condensación del glicerol-3-fosfato y dos acil-CoA es el ácido fosfatídico que se utiliza en la síntesis de fosfolípidos. En los triacilgliceroles del ser humano, el palmitato suele estar unido en C-1 y el oleato en C-2.

que se produce la acilación directa de la dihidroxiacetona fosfato. En esta última ruta, la acildihidroxiacetona fosfato se reduce posteriormente para formar ácido lisofosfatídico. Dependiendo de la ruta que se utilice, la síntesis de ácido lisofosfatídico emplea NADH o NADPH. El ácido fosfatídico se produce cuando el ácido lisofosfatídico reacciona con una segunda acil-CoA. Una vez formado el ácido fosfatídico, se convierte en diacilglicerol por la ácido fosfatídico fosfatasa. Una tercera reacción de acilación forma el triacilglicerol. Se incorporan a los triacilgliceroles tanto los ácidos grasos que proceden del alimento como los de la síntesis *de novo*. (El término *de novo* lo utilizan los bioquímicos para indicar una síntesis nueva.) Se considera la síntesis *de novo* de los ácidos grasos.

Cuando descienden las reservas energéticas, los almacenes de grasa del cuerpo se movilizan por un proceso que se denomina **lipólisis** (Fig. 12-3). La lipólisis tiene lugar durante el ayuno, durante el ejercicio vigoroso y como respuesta a la agresión. Varias hormonas (p. ej., glucagón y adrenalina) se unen a receptores específicos de la membrana plasmática de los adipocitos y comienza una secuencia de reacciones semejantes a la activación de la glucógeno fosforilasa. La unión de la hormona al receptor eleva la concentración citosólica de cAMP, el cual a su vez activa la triacilglicerol lipasa sensible a las hormonas. (Los triacilgliceroles se sintetizan y movilizan de forma continua en el tejido adiposo. La activación de la lipasa sensible a las hormonas incrementa en gran medida la velocidad de hidrólisis de los triacilgliceroles.) Ambos productos de la lipólisis (es decir, los ácidos grasos y el glicerol) se liberan a la sangre. Como se ha señalado antes (véase las págs. 252-253), el glicerol se transporta al hígado donde puede utilizarse para la síntesis de lípidos o de gluco-

CONCEPTOS CLAVE 12.1

Cuando las reservas energéticas son elevadas, los triacilgliceroles se almacenan mediante un proceso que se denomina lipogénesis. Cuando las reservas energéicas son bajas, los triacilgliceroles se degradan mediante un proceso denominado lipólisis para formar ácidos grasos y glicerol.

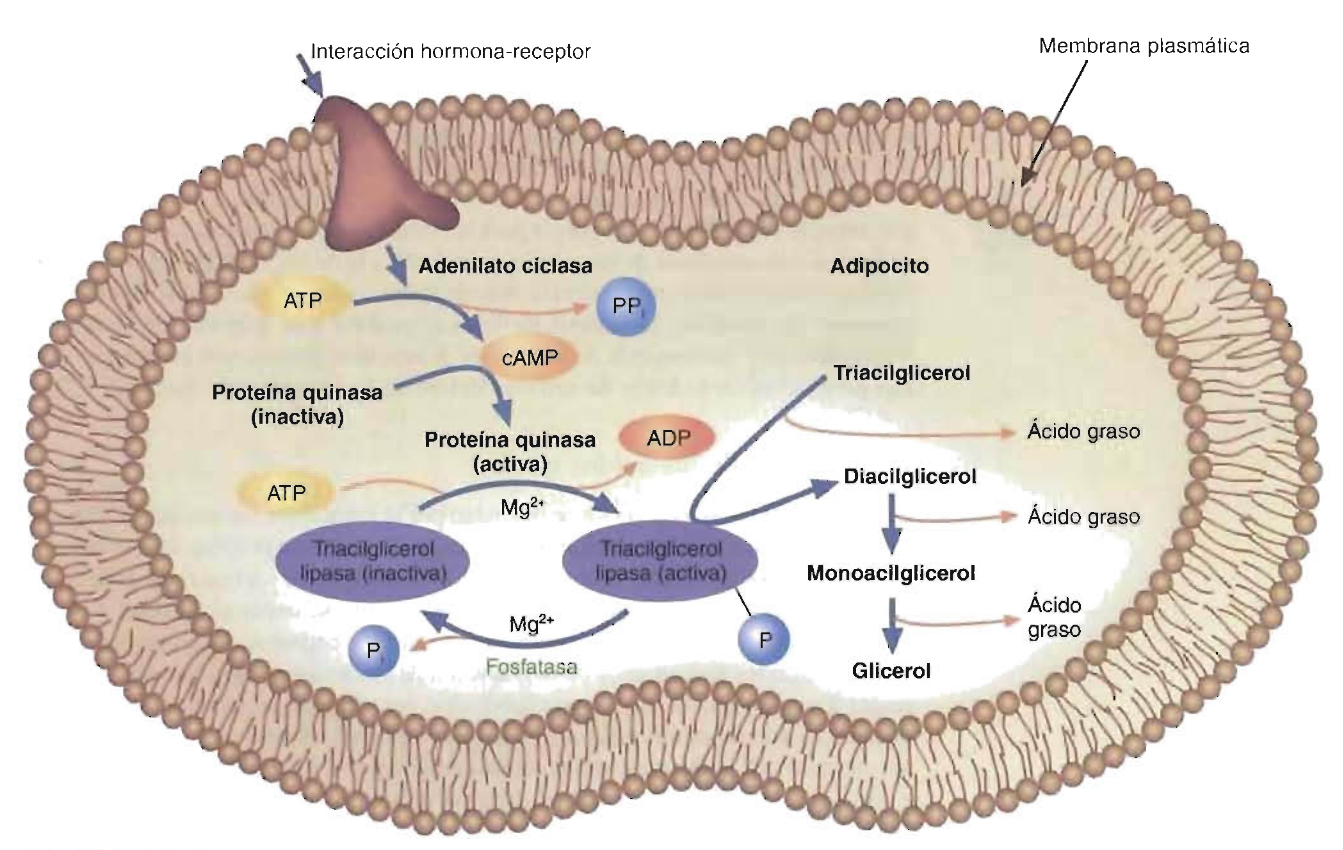


FIGURA 12-3

Representación esquemática de la lipólisis.

Cuando determinadas hormonas se unen a sus receptores en el tejido adiposo, un mecanismo en cascada libera los ácidos grasos y el glicerol de las moléculas de triacilgliceroles. Se activa la triacilglicerol lipasa (que suele denominarse lipasa sensible a las hormonas) cuando la proteína quinasa la fosforila. Ésta se activa por el cAMP. Tras su transporte a través de la membrana plasmática, los ácidos grasos se llevan en la sangre a otros órganos unidos a la albúmina sérica.

sa. Tras su transporte a través de la membrana plasmática del adipocito, los ácidos grasos se unen a la albúmina sérica. (La albúmina sérica es una proteína abundante que transporta numerosas sustancias en la sangre. Otros ejemplos de ligandos hidrófobos de la albúmina son los esteroides y los eicosanoides.) Los ácidos grasos unidos a la albúmina se transportan a todos los tejidos del cuerpo, donde se oxidan para generar energía. Los ácidos grasos se introducen en las células por una proteína de la membrana plasmática. Este proceso está ligado al transporte activo del sodio. La cantidad de ácidos grasos que se transportan depende de su concentración en sangre y de la actividad relativa del mecanismo de transporte de los ácidos grasos. Las células se diferencian mucho en su capacidad para transportar y utilizar los ácidos grasos. Por ejemplo, algunas células (ej., del cerebro y eritrocitos) no pueden utilizar como combustible los ácidos grasos, aunque otras (ej., las del músculo cardíaco) dependen de ellos para obtener una proporción importante de la energía que necesitan. Una vez que entran en la célula, los ácidos grasos deben transportarse a sus destinos (es decir, las mitocondrias, el retículo endoplásmico y otros orgánulos). Son responsables de este transporte varias **proteínas de unión de ácidos grasos** (proteínas hidrosolubles cuya única función es unir y transportar ácidos grasos hidrófobos).

La mayoría de los ácidos grasos se degradan para formar acetil-CoA dentro de las mitocondrias en un proceso que se denomina β-oxidación. Ésta también se produce en los peroxisomas. También existen otros mecanismos oxidativos para degradar determinados ácidos grasos no estándar (Recuadro de Interés Especial 12.1).

Los ácidos grasos se sintetizan cuando un organismo tiene cubiertas sus necesidades energéticas y las concentraciones de nutrientes son elevadas. (La glucosa y varios aminoácidos son sustratos de la síntesis de los ácidos grasos.) Los ácidos grasos se sintetizan a partir de la acetil-CoA en un proceso que es semejante a la inversa de la β-oxidación. Aunque la mayoría de los ácidos grasos se suministran en el alimento, la mayor parte de los tejidos animales puede sintetizar algunos ácidos grasos saturados e insaturados. Además, los animales pueden alargar y desaturar los ácidos grasos del alimento. Por ejemplo, el ácido araquidónico se produce añadiendo una unidad de dos carbonos e introduciendo dos dobles enlaces en el ácido linoleico.



En los vegetales, los ácidos grasos de los triacilgliceroles se utilizan predominantemente como fuente de energía para las semillas que germinan. Una vez sintetizados (en una secuencia de reacciones semejante a la de los animales), los triacilgliceroles se almacenan en vesículas denominadas *cuerpos grasos*. Al comenzar a germinar las semillas, la síntesis de lipasas produce una degradación masiva de triacilgliceroles. La mayoría de los ácidos grasos liberados en este proceso se utilizan para sintetizar hidratos de carbono dentro de los glioxisomas (Sección 9.2).

Degradación de los ácidos grasos

La mayoría de los ácidos grasos se degradan por la separación secuencial de fragmentos de dos carbonos desde el extremo carboxilo. Durante este proceso, que se denomina **β-oxidación**, al romperse el enlace entre los átomos de carbono α y β se forma acetil-CoA. (La β-oxidación se denomina así porque se oxida el carbono β de los ácidos grasos, que es el que se encuentra separado dos carbonos del grupo carboxilo.) Se conocen otros mecanismos de degradación de los ácidos grasos, la mayoría de los cuales degradan ácidos grasos poco habituales; por ejemplo, las moléculas de cadenas impares o cadenas ramificadas normalmente requieren un paso de α-oxidación en el que la cadena de ácido graso se acorta un carbono por una descarboxilación oxidativa a pasos. En algunos organismos, el carbono más alejado del grupo carboxilo puede oxidarse mediante un proceso denominado ω-oxidación. La posterior β-oxidación genera un ácido dicarboxílico de cadena corta. Se conoce muy poco sobre la estructura, mecanismo o relevancia de las enzimas de la ω-oxidación. Una vez formados, la acetil CoA y los otros productos de cadena corta pueden utilizarse para generar energía o para proporcionar intermediarios metabólicos. A continuación se presenta la β-oxidación. La degradación de los ácidos grasos de cadena impar, de cadena ramificada y los insaturados se trata en el Recuadro de Interés Especial 12.1.

PREGUNTA 12.1

Acaba de comerse una hamburguesa de queso. Rastree las moléculas de grasa (triacilgliceroles) desde la hamburguesa de queso hasta sus adipocitos (células grasas).

PREGUNTA 12.2

La secreción de VLDL por las células hepáticas depende directamente de la concentración intracelular de ácidos grasos. Una proteína citoplásmica de unión de ácidos grasos (FABP) puede ser responsable del transporte de los ácidos grasos al REL, el lugar donde se sintetizan los triacilgliceroles. Debido a que la secreción hepática de las VLDL es mayor en las ratas hembra que en los machos, puede existir una conexión entre las hormonas sexuales, la concentración de FABP y la velocidad de secreción de VLDL. Si esto es así, ¿qué esperaría sucediese si se inyectan estrógenos a una rata macho? En general, ¿qué mecanismos participan? (*Pista*: Las hormonas esteroideas ejercen sus efectos metabólicos produciendo cambios de la expresión genética.)

La β-oxidación se produce principalmente dentro de las mitocondrias. (También se considera la β-oxidación dentro de los peroxisomas). Antes de que comience la β-oxidación, cada ácido graso se activa en una reacción con el ATP y la CoASH (véase la pág. 375). La enzima que cataliza esta reacción, la acil-CoA sintetasa, se encuentra en la membrana mitocondrial externa. Debido a que la membrana mitocondrial interna es impermeable a la mayoría de las moléculas de acil-CoA. Para transportar los grupos acilo dentro de la mitocondria se utiliza un transportador especial denominado *carnitina* (Fig. 12-4). La transferencia de los grupos acilo por medio de la carnitina al interior de la matriz mitocondrial se realiza mediante el siguiente mecanismo (Fig. 12-5):

$$CH_3-\overset{+}{N}(CH_3)_2-CH_2-CH(OH)-CH_2-C(=O)-O^-$$

FIGURA 12-4
Estructura de la carnitina.

1. Cada molécula de acil-CoA se convierte en un derivado de acilcarnitina:

$$\underset{\text{Acil-CoA}}{R-C(=O)-S-CoA} + \underset{\text{Carnitina}}{(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH(OH)-CH_2-C(=O)-O^-} \rightleftharpoons \underset{\text{Acil-carnitina}}{(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH(O-C(=O)-R)-CH_2-C(=O)-O^-} + CoASH$$

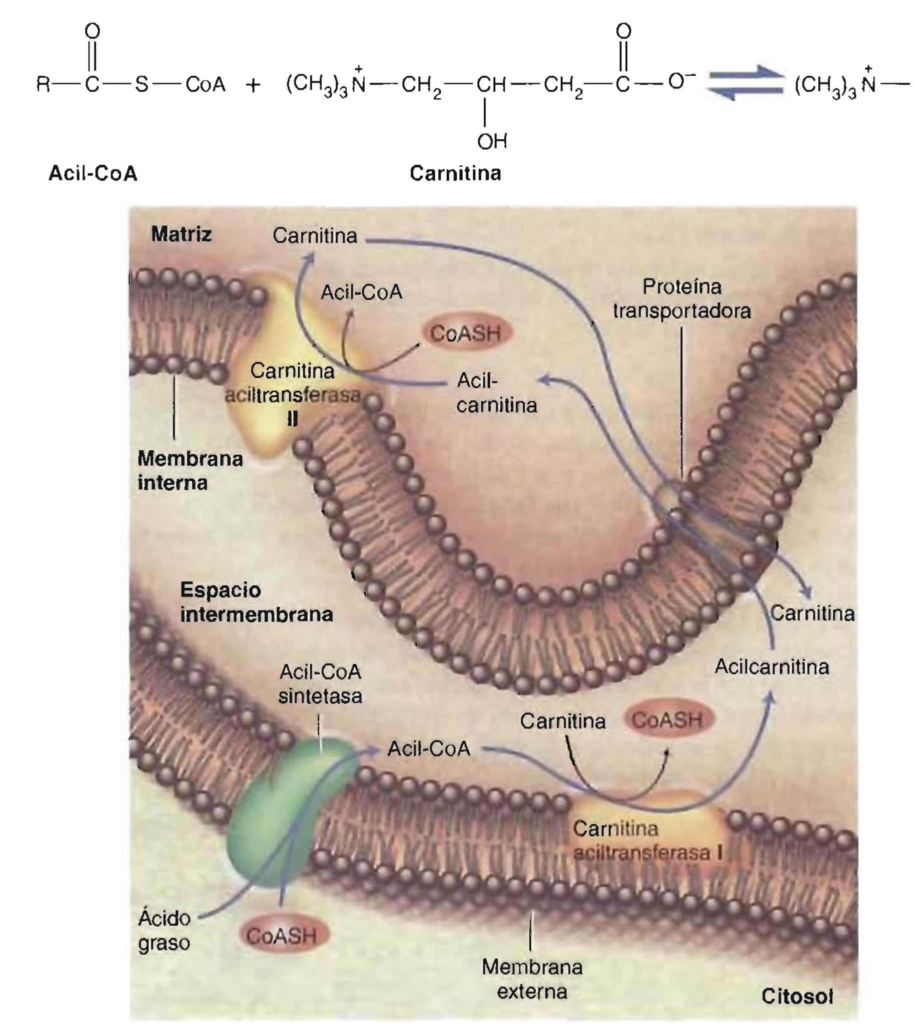


FIGURA 12-5
Transporte de los ácidos grasos dentro de las mitocondrias.

Los ácidos grasos se activan para formar acil-CoA por la acil-CoA sintetasa, una enzima de la membrana mitocondrial externa. A continuación, la acil-CoA reacciona con la carnitina para formar un derivado de acil-carnitina. Esta reacción la cataliza la carnitina aciltransferasa I. Tras el transporte de la acilcarnitina a través de la membrana interna por una proteína transportadora, vuelve a reconvertirse en carnitina y acil-CoA por la carnitina aciltransferasa II.

FIGURA 12-6

β-oxidación de las acil-CoA.

La β-oxidación de las moléculas de acil-CoA está formada por cuatro reacciones que se producen en la matriz mitocondrial. Cada ciclo de reacciones forma acetil-CoA y una acil-CoA con dos carbonos menos.

Esta reacción la cataliza la carnitina aciltransferasa I.

2. Una proteína transportadora dentro de la membrana mitocondrial interna transfiere la acilcarnitina a la matriz mitocondrial.
3. La acil-CoA se regenera por la carnitina aciltransferasa II.
4. La carnitina se devuelve al espacio intermembrana por la proteína transportadora. A continuación reacciona con otra acil-CoA.

En la Figura 12-6 se presenta un resumen de las reacciones de la β-oxidación de los ácidos grasos saturados. La ruta comienza con una reacción de oxidación-reducción, catalizada por la acil-CoA deshidrogenasa (una flavoproteína de la membrana mitocondrial interna), en la que se separa un átomo de hidrógeno de cada uno de los carbonos α y β y se transfieren a un FAD unido a la enzima:

El $FADH_2$ producido en esta reacción cede a continuación 2 electrones a la cadena de transporte electrónico mitocondrial (CTE). Existen varias isoenzimas de la acil-CoA deshidrogenasa, cada una de ellas específica de una longitud de cadena del ácido graso. El producto de esta reacción es la *trans*-α,β-enoil-CoA.

La segunda reacción, que cataliza la enoil-CoA hidratasa, comporta una hidratación del doble enlace entre los carbonos α y β:

$$R-CH=CH-CO-S-CoA + H_2O \longrightarrow R-CH(OH)-CH_2-CO-S-CoA$$

***trans*-α, β-Enoil-CoA** — **β-Hidroxiacil-CoA**

El carbono β se encuentra ahora hidroxilado. En la reacción siguiente se oxida este grupo hidroxilo. La producción de una β-cetoacil-CoA la cataliza la β-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa:

$$R-\underset{\beta}{CH(OH)}-\underset{\alpha}{CH_2}-CO-S-CoA \xrightarrow{NAD^+ \rightarrow NADH + H^+} R-\underset{\beta}{CO}-\underset{\alpha}{CH_2}-CO-S-CoA$$

β-Hidroxiacil-CoA — **β-Cetoacil-CoA**

Los electrones que se transfieren al NAD^+, posteriormente se ceden al Complejo I de la CTE. Finalmente, la tiolasa (que también se denomina β-cetoacil-CoA tiolasa) cataliza la rotura C_α-C_β:

$$R-\underset{\beta}{CO}-\underset{\alpha}{CH_2}-CO-S-CoA + CoASH \longrightarrow R-CO-S-CoA + CH_3-CO-S-CoA$$

β-Cetoacil-CoA — **Acil-CoA** — **Acetil-CoA**

En esta reacción, que suele denominarse **rotura tiolítica**, se libera una molécula de acetil-CoA. El otro producto, una acil-CoA, contiene ahora dos átomos de C menos.

Los cuatro pasos que se acaban de exponer constituyen un ciclo de β-oxidación. Durante cada ciclo posterior, se separa un fragmento de dos carbonos. Este proceso que a veces se denomina *espiral de β-oxidación*, continúa hasta que, en el último ciclo, se rompe una acil-CoA de cuatro carbonos para formar dos moléculas de acetil-CoA.

La ecuación siguiente resume la oxidación de la palmitoil-CoA:

$$CH_3(CH_2)_{14}CO-S-CoA + 7\ FAD + 7\ NAD^+ + 7\ CoASH + 7\ H_2O \longrightarrow$$

$$8\ CH_3CO-S-CoA + 7\ FADH_2 + 7\ NADH + 7\ H^+$$

Las moléculas de acetil-CoA producidas por la oxidación de los ácidos grasos se convierten en el *ciclo del ácido cítrico* en CO_2 y H_2O al formarse otros NADH y $FADH_2$. Una parte de la energía que se libera al oxidarse el NADH y $FADH_2$ por la CTE se captura posteriormente en la síntesis de ATP mediante la *fosforilación oxidativa*. La oxidación total de la acetil-CoA se considera en el Capítulo 10. A continuación se revisa el cálculo del número total de ATP que pueden generarse a partir del palmitoil.

PREGUNTA 12.3

Identifique cada una de las biomoléculas siguientes:

(a) $R'-C(=O)-O-CH(CH_2-O-C(=O)-R)(CH_2-O-PO_3^{2-})$

(b) $R-C(=O)-S-CoA$

(c) $(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH-CH_2-C(=O)-O^-$

PREGUNTA 12.4

En ausencia de oxígeno, las células pueden producir cantidades pequeñas de ATP a partir de la oxidación anaerobia de la glucosa. Esto no es cierto para la oxidación de los ácidos grasos. Explíquelo.

Oxidación total de un ácido graso

La oxidación aerobia de un ácido graso genera un gran número de moléculas de ATP. Como se ha descrito previamente (véase la pág. 315), la oxidación de cada $FADH_2$ durante el transporte electrónico y la fosforilación oxidativa proporciona aproximadamente 1.5 moléculas de ATP. De manera semejante, la oxidación de cada NADH proporciona aproximadamente 2.5 moléculas de ATP. El rendimiento de ATP por la oxidación de la palmitoil-CoA que genera 7 $FADH_2$, 7 NADH y 8 acetil-CoA para formar CO_2 y H_2O se calcula como sigue:

$$7\ FADH_2 \times 1.5\ ATP/FADH_2 = 10.5\ ATP$$
$$7\ NADH \times 2.5\ ATP/NADH = 17.5\ ATP$$
$$8\ Acetil\text{-}CoA \times 10\ ATP/acetil\text{-}CoA = \underline{80\ ATP}$$
$$108\ ATP$$

La formación de palmitoil-CoA a partir de ácido palmítico utiliza dos equivalentes de ATP. (La síntesis de ATP a partir de AMP implica dos reacciones de fosforilación secuenciales.) La síntesis neta de ATP por molécula de palmitoil-CoA es por lo tanto de 106 moléculas de ATP.

Puede compararse el rendimiento de ATP de la oxidación del ácido palmítico y de la glucosa. Recuerde que el número total de moléculas de ATP producidas por molécula de glucosa es aproximadamente de 31. Si se comparan las moléculas de ácido palmítico y de glucosa en términos del número de moléculas de ATP que producen por átomo de carbono, el ácido palmítico es una fuente de energía superior. El cociente para la glucosa es 31/6 = 5.2 moléculas de ATP por átomo de carbono. El ácido palmítico rinde 106/16 = 6.6 moléculas de ATP por átomo de carbono. La oxidación del ácido palmítico genera más energía que la de la glucosa debido a que el ácido palmítico es una molécula más reducida. (La glucosa con sus seis átomos oxigenados es una molécula parcialmente oxidada.)

PREGUNTA 12.5

Determine el número de moles de NADH, $FADH_2$ y moléculas de ATP que pueden sintetizarse a partir de 1 mol de ácido esteárico.



β-OXIDACIÓN EN LOS PEROXISOMAS La β-oxidación de los ácidos grasos se produce también dentro de los peroxisomas. En los animales, la β-oxidación en los peroxisomas parece acortar ácidos grasos de cadena muy larga. Los ácidos grasos de cadena media resultantes se degradan posteriormente dentro de las mitocondrias. En muchas células vegetales, la β-oxidación tiene lugar predominantemente en los peroxisomas. (En la mayoría de los tejidos vegetales los ácidos grasos no son una fuente de energía importante. Aunque algunas mitocondrias de los vegetales contienen enzimas de la β-oxidación, esta ruta no se considera que contri-

buya a la generación de energía en un grado sustancial.) En algunas semillas que germinan, la β-oxidación se produce en los glioxisomas. (Los glioxisomas son peroxisomas especializados que poseen las enzimas del ciclo del glioxilato. Véase la pág. 293.) La acetil-CoA que se produce en la β-oxidación de los peroxisomas se convierte en hidratos de carbono por el ciclo del glioxilato y la gluconeogénesis.

La membrana peroxisómica posee una actividad acil-CoA ligasa que es específica de los ácidos grasos de cadena muy larga. Las mitocondrias aparentemente no pueden activar los ácidos grasos de cadena larga como el tetracosanoico (24:0) y hexacosanoico (26:0). Las carnitinas aciltransferasas peroxisómicas catalizan la transferencia de estas moléculas al interior de los peroxisomas, donde se oxidan para formar acetil-CoA y moléculas de acil-CoA de cadena media (aquellas que poseen entre 6 y 12 átomos de carbono). Las acil-CoA de cadena media se degradan posteriormente mediante β-oxidación dentro de las mitocondrias.

Aunque las reacciones de la β-oxidación peroxisómica son semejantes a las de las mitocondrias, existen algunas diferencias notables. En primer lugar, la reacción inicial en la ruta peroxisómica está catalizada por una enzima diferente. Esta reacción es una deshidratación que cataliza una acil-CoA oxidasa. La coenzima reducida $FADH_2$ cede a continuación sus electrones directamente al O_2 en lugar de a la UQ (coenzima Q). Esta característica de la β-oxidación peroxisómica contrasta marcadamente con la ruta mitocondrial que sintetiza ATP. El H_2O_2 producido cuando se oxida el $FADH_2$ se convierte en H_2O por la catalasa. En segundo lugar, las dos reacciones siguientes de la β-oxidación peroxisómica están catalizadas por dos actividades enzimáticas (enoil-CoA hidrasa y 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa) que se encuentran en la misma molécula proteica. Finalmente, la última enzima de la ruta (β-cetoacil-CoA tiolasa) tiene una especificidad por el sustrato diferente de la de su versión mitocondrial, ya que no une de forma eficaz las acil-CoA de cadena media.

PREGUNTA 12.6



Además de la β-oxidación, los peroxisomas poseen otras funciones vitales en el metabolismo lipídico. Por ejemplo, la síntesis de diversos lípidos de tipo éter se produce dentro de los peroxisomas. En una enfermedad autosómica recesiva poco frecuente que se denomina *síndrome de Zellweger*, las personas afectadas carecen de peroxisomas. Las anomalías de varios órganos (especialmente el cerebro, el hígado y el riñón) conducen a la muerte en el primer año de vida. Debido a que la ausencia de un orgánulo no puede confirmarse mediante métodos microscópicos, para diagnosticar el síndrome de Zellweger deben utilizarse las técnicas bioquímicas. (El orgánulo puede estar tan afectado por el defecto genético que no pueda detectarse). Sugiera en términos generales varios métodos bioquímicos para diagnosticar esta enfermedad.

CUERPOS CETÓNICOS La mayor proporción de la acetil-CoA que se produce durante la oxidación de los ácidos grasos se utiliza en el ciclo del ácido cítrico o en la síntesis de isoprenoides (Sección 12.3). En condiciones normales, el metabolismo de los ácidos grasos está tan cuidadosamente regulado que sólo se producen pequeñas cantidades sobrantes de acetil-CoA. En un proceso que se denomina **cetogénesis**, las moléculas de acetil-CoA se convierten en acetoacetato, β-hidroxibutirato y acetona, un grupo de moléculas que se denominan **cuerpos cetónicos** (Fig. 12-7).

La formación de cuerpos cetónicos, que tiene lugar dentro de la matriz de las mitocondrias hepáticas, comienza con la condensación de dos acetil-CoA para formar acetoacetil-CoA. A continuación la acetoacetil-CoA se condensa con otra acetil-CoA para formar β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). En la reacción siguiente, la HMG-CoA se fracciona para formar acetoacetato y acetil-CoA. Luego el acetoacetato se reduce para formar β-hidroxibutirato. La acetona se forma por la descarboxilación espontánea del acetoacetato cuando la concentración de esta última molécula es elevada. (Este proceso que se denomina **cetosis**, se produce en la diabetes descontrolada, una enfermedad metabólica que se considera en el Recuadro de Interés Especial 16.3, y durante la inanición. En ambos trastornos el suministro de energía depende, en gran medida, de las reservas de grasas y de la β-oxidación de los ácidos grasos.)

CONCEPTOS CLAVE 12.2

En la β-oxidación, los ácidos grasos se degradan mediante la ruptura del enlace entre los átomos de carbono α y β. Los cuerpos cetónicos se producen a partir de las moléculas sobrantes de acetil-CoA.

Oxidación de los ácidos grasos: dobles enlaces y cadenas impares

La ruta de β-oxidación degrada los ácidos grasos saturados con un número par de átomos de carbono. Para degradar los ácidos grasos insaturados, los de cadena impar y los ramificados se requieren determinadas reacciones adicionales.

Oxidación de los ácidos grasos insaturados

La oxidación de los ácidos grasos insaturados, como el ácido oleico, requiere enzimas adicionales. Se necesitan debido a que de forma diferente a los dobles enlaces *trans* que se introducen durante la β-oxidación, los dobles enlaces de la mayoría de los ácidos grasos insaturados naturales poseen una configuración *cis*. La enzima enoil-CoA isomerasa convierte el doble enlace *cis* β,γ en un doble enlace *trans* β,γ. En la Figura 12A se presenta la β-oxidación del ácido oleico.

Oxidación de los ácidos grasos de cadena impar

Aunque la mayoría de los ácidos grasos contiene un número par de átomos de carbono, algunos organismos (p. ej., algunos vegetales y microorganismos) producen moléculas de ácidos grasos de cadena impar. La β-oxidación de estos ácidos grasos tiene lugar normalmente en el último ciclo de β-oxidación, que proporciona una molécula de acetil-CoA y una molécula de propionil-CoA. La propionil-CoA se convierte posteriormente en succinil-CoA, un intermediario del ciclo del ácido cítrico (Fig. 12B). Los rumiantes, como la vaca y la oveja, obtienen una cantidad sustancial de energía a partir de la oxidación de ácidos grasos de cadena impar. Estas moléculas las producen microorganismos del estómago.

α-Oxidación

La α-oxidación es un mecanismo para evitar la presencia de una ramificación en una molécula de ácido graso como el ácido fitánico, un ácido graso ramificado de 20 carbonos. (El ácido fitánico es un producto de la oxidación del fitol, un alcohol diterpénico esterificado con clorofila, el pigmento fotosintético.) El fitol, que se encuentra en las legumbre, tras su ingestión se convierte en ácido fitánico. El ácido fitánico es un componente de los alimentos que procede de los animales herbívoros. En algunos tejidos vegetales (p. ej., hojas y semillas), la α-oxidación es un mecanismo importante en la degradación de los ácidos grasos de cadena larga.

La β-oxidación del ácido fitánico se bloquea por el grupo metilo sustituyente de C-3 (la posición β). Consecuentemente, el primer paso del catabolismo del ácido fitánico es una α-oxidación en la que la molécula se convierte la molécula en un ácido graso α-hidroxi. (La actividad de hidroxilación en α se ha detectado en el RE y en las mitocondrias.) Tras esta reacción, se elimina el grupo carboxilo (Fig. 12C). Tras la activación a un derivado de CoA, el producto, el ácido pristánico,

FIGURA 12A β-Oxidación de la oleoil-CoA.
La β-oxidación del derivado de la CoA del ácido oleico avanza hasta que se produce la Δ^3-*cis*-dodecenoil-CoA. Esta molécula no es un sustrato adecuado de la β-oxidación ya que contiene un doble enlace *cis*. Tras la conversión del doble enlace β,γ *cis* en un doble enlace α,β *trans*, se reanuda la β-oxidación.

puede degradarse posteriormente mediante β-oxidación. Todos los siguientes grupos metilo de cadena lateral se encontrarán en la posición α, lo cual no es un problema para las enzimas de la β-oxidación.

La capacidad de oxidar el ácido fitánico es fundamental, ya que en la alimentación se encuentran grandes cantidades de este ácido. En la *enfermedad de Refsum* (que también se denomina *síndrome de almacenamiento de ácido fitánico*) la acumulación de ácido fitánico da lugar a problemas neurológicos muy graves. En este trastorno autosómico recesivo poco frecuente, la lesión nerviosa se produce por la carencia de actividad α-hidroxilante. No se conoce el mecanismo por el que la acumulación del ácido fitánico produce la lesión nerviosa. La ingestión de menor cantidad de alimentos que contienen ácido fitánico (p. ej., lácteos) reduce de forma significativa el daño nervioso.

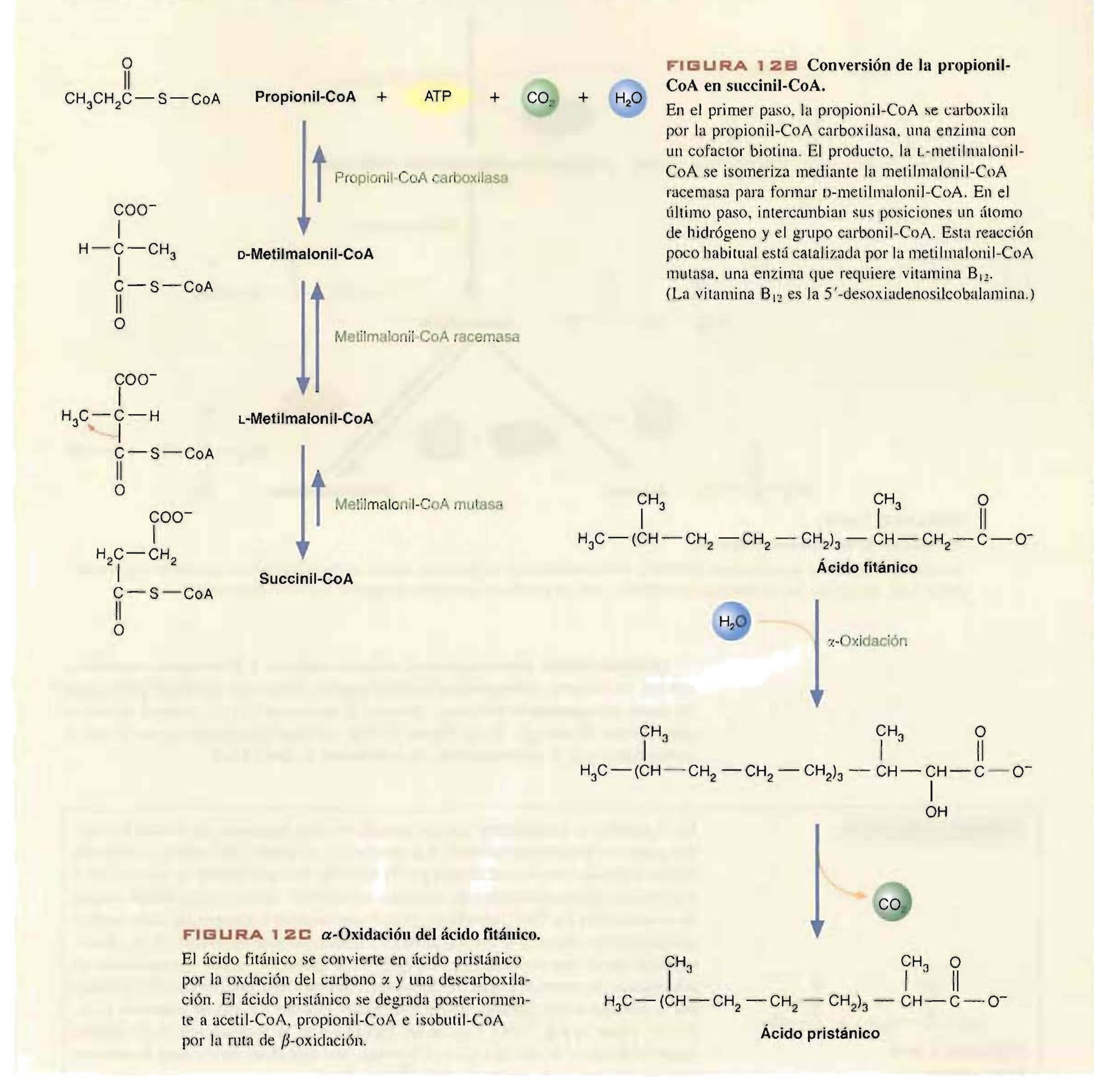


FIGURA 12B Conversión de la propionil-CoA en succinil-CoA.
En el primer paso, la propionil-CoA se carboxila por la propionil-CoA carboxilasa, una enzima con un cofactor biotina. El producto, la L-metilmalonil-CoA se isomeriza mediante la metilmalonil-CoA racemasa para formar D-metilmalonil-CoA. En el último paso, intercambian sus posiciones un átomo de hidrógeno y el grupo carbonil-CoA. Esta reacción poco habitual está catalizada por la metilmalonil-CoA mutasa, una enzima que requiere vitamina B_{12}. (La vitamina B_{12} es la 5′-desoxiadenosilcobalamina.)

FIGURA 12C α-Oxidación del ácido fitánico.
El ácido fitánico se convierte en ácido pristánico por la oxdación del carbono α y una descarboxilación. El ácido pristánico se degrada posteriormente a acetil-CoA, propionil-CoA e isobutil-CoA por la ruta de β-oxidación.

FIGURA 12-7
Formación de los cuerpos cetónicos.
Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, acetona y β-hidroxibutirato) se producen dentro de las mitocondrias cuando se dispone de acetil-CoA en exceso. En circunstancias normales, sólo se producen cantidades pequeñas de cuerpos cetónicos.

Diversos tejidos, especialmente el músculo cardíaco y el músculo esquelético, utilizan los cuerpos cetónicos para generar energía. Durante la inanición prolongada (es decir, en ausencia de suficiente glucosa) el cerebro utiliza los cuerpos cetónicos como fuente de energía. En la Figura 12-8 se presenta el mecanismo por el que el acetoacetato y el β-hidroxibutirato se convierten en acetil-CoA.

PREGUNTA 12.7

En el pasado, se consideraba que los mamíferos eran incapaces de utilizar los ácidos grasos en la gluconeogénesis. (La acetil-CoA no puede convertirse en piruvato debido a que la reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa es irreversible.) Las pruebas experimentales más recientes indican que determinados ácidos grasos poco habituales (es decir, aquellos con cadenas impares o dos grupos ácido carboxílico) pueden convertirse en pequeñas cantidades, aunque mensurables, de glucosa. Se produce una molécula de propionil-CoA cuando se oxida una molécula de ácido graso de número impar de carbonos. Describa una posible ruta bioquímica por la que una célula hepática pudiera sintetizar glucosa a partir de propionil-CoA. (*Pista*: Véase la Fig. 12B.) Uno de los productos de la β-oxidación de los ácidos dicarboxílicos es la succinil-CoA. Proponga una ruta bioquímica para la conversión en glucosa de la molécula de la Figura 12-9.

FIGURA 12-9
Ácido adípico.

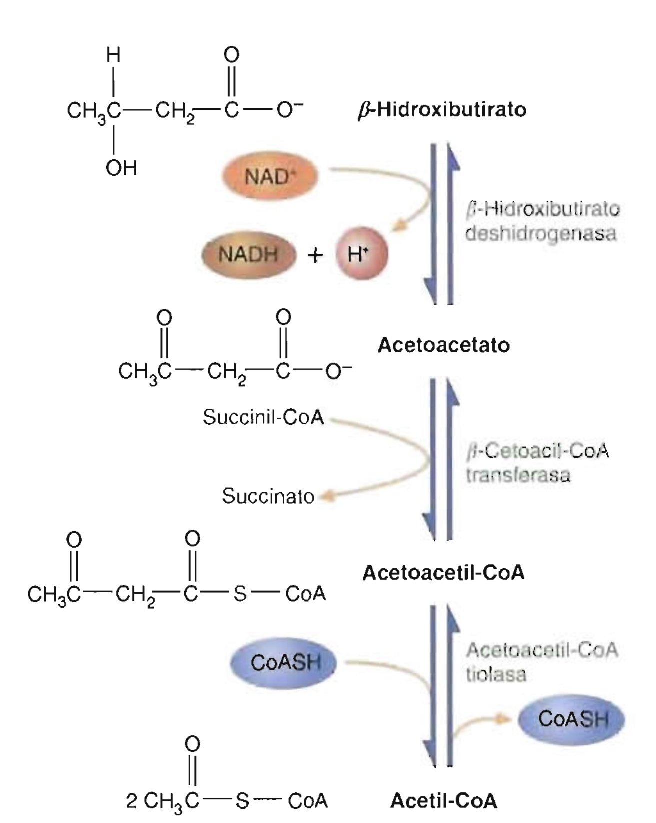


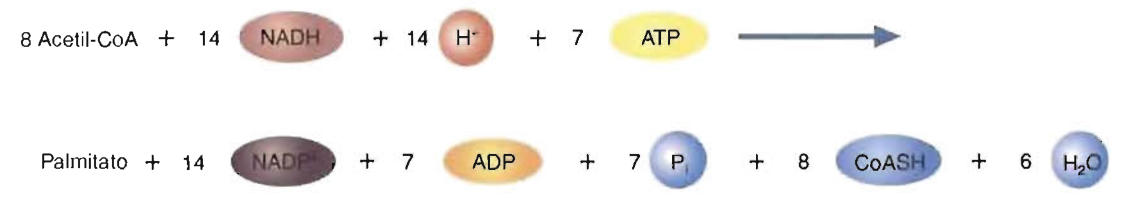
FIGURA 12-8

Conversión de los cuerpos cetónicos en acetil-CoA.

Algunos órganos (p. ej., el corazón y el músculo esquelético) pueden utilizar los cuerpos cetónicos (β-hidroxibutirato y acetoacetato) como fuente de energía en condiciones normales. Durante la inanición, el cerebro los utiliza como fuente importante de combustible. Debido a que el hígado no tiene β-cetoácido-CoA transferasa, no puede utilizar como fuente de energía los cuerpos cetónicos. Estas reacciones son reversibles.

Biosíntesis de los ácidos grasos

Aunque la síntesis de los ácidos grasos tiene lugar dentro del citoplasma de la mayoría de las células animales, el hígado es el principal lugar de este proceso. (Recuerde, por ejemplo, que el hígado produce VLDL. Véase la pág. 349.) Los ácidos grasos se sintetizan cuando la alimentación tiene pocas grasas y/o muchos hidratos de carbono o proteínas. La mayoría de los ácidos grasos se sintetizan a partir de la glucosa del alimento. Como se ha descrito, la glucosa se convierte en piruvato en el citoplasma. Tras entrar en las mitocondrias, el piruvato se convierte en acetil-CoA, que se condensa con el oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, para formar citrato. Cuando la concentración mitocondrial de citrato es lo suficientemente elevada (es decir, los requerimientoe energéticos son bajos), el citrato pasa al citoplasma, donde se fragmenta para formar acetil-CoA y oxalacetato. La reacción neta de la síntesis de ácido palmítico a partir de acetil-CoA es como sigue:



Para la síntesis de los ácidos grasos se requiere una cantidad relativamente grande de NADPH. Una cantidad sustancial de NADPH la proporciona la ruta de las pentosas fosfato (véase la pág. 256). Las reacciones catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa (véase la pág. 285) y la enzima málica (véase la pág. 291) proporcionan cantidades más pequeñas.

En la Figura 12-10 se presenta la biosíntesis de los ácidos grasos. A primera vista, la síntesis de los ácidos grasos parece ser la inversa de la ruta de β-oxidación. Por ejemplo, los ácidos grasos se construyen por la adición secuencial de grupos de dos carbonos que suministran la acetil-CoA. Además, los mismos intermediarios se encuentran en ambas rutas (es decir, los grupos β-cetoacilo, β-hidroxiacilo y acilo α,β-insaturado).

Como se ha presentado previamente (véase la pág. 338) muchos eicosanoides importantes se forman a partir del ácido araquidónico. Casi todo el ácido araquidónico celular se almacena en las membranas celulares en forma de ésteres en C-2 del glicerol de los fosfoglicéridos. La liberación del ácido araquidónico de la membrana, que es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de eicosanoides (Fig. 12D), se produce como consecuencia de la unión de una señal química adecuada a su receptor sobre la membrana plasmática de una célula diana. Por ejemplo, la liberación de ácido araquidónico en las plaquetas la produce la unión de la trombina, una enzima que desempeña un papel fundamental en la coagulación sanguínea. (La trombina es una enzima proteolítica que convierte la proteína plasmática soluble plasmi-

FIGURA 12D Síntesis de prostaglandinas y tromboxanos seleccionados.
Cada paso está catalizado por una enzima específica de cada célula. Observe que a pH fisiológico, los ácidos grasos están ionizados.

nógeno en fibrina, que posteriormente forma una red insoluble.) La agregación de las plaquetas que desencadena el eicosanoide TXA, es un paso inicial esencial en el proceso de coagulación de la sangre.

Lo más habitual es que la liberación del ácido araquidónico la catalice la fosfolipasa A_2. Determinados esteroides que suprimen la inflamación inhiben la fosfolipasa A_2. Ésta rompe los grupos acilo de un fosfoglicérido en C-2, formándose, de esta manera, un ácido graso y un lisofosfoglicérido. Una vez liberadas, las moléculas de ácido araquidónico pueden convertirse (dependiendo del tipo celular y de las condiciones intracelulares) en diversas moléculas de eicosanoides. La síntesis de prostaglandinas comienza cuando la ciclooxigenasa convierte el ácido araquidónico en PGG_2. (La aspirina inactiva la ciclooxigenasa al acetilar un residuo esencial de serina de la enzima.) Luego, la formación de PGH_2 a partir de PGG_2 la cataliza la peroxidasa. (La prostaglandina endoperoxidasa sintasa, una enzima del RE, posee ambas actividades ciclooxigenasa y peroxidasa.) La PGH_2 es precursora de varios eicosanoides. Por ejemplo, la PGE_2 y la PGF_2 se forman a partir de la PGH_2 por las acciones de la prostaglandina endoperóxido E isomerasa y la prostaglandina endoperóxido reductasa, respectivamente. En las plaquetas y las células pulmonares, la TXA_2 sintasa cataliza la conversión de PGH_2 en TXA_2. En segundos, se hidroliza espontáneamente a la molécula inactiva TXB_2.

En una ruta independiente, el ácido araquidónico se convierte en los leucotrienos. Varias enzimas, denominadas lipooxigenasas, catalizan la adición de grupos hidroperóxido al ácido araquidónico. (Las lipooxigenasas se encuentran en muchos tejidos de mamíferos y en algunos vegetales.) Los productos de estas reacciones, que se denominan ácidos monohidroperoxieicosatetraenoicos (HPETEs), son los precursores directos de los leucotrienos. Por ejemplo, la 5-lipooxigenasa cataliza la síntesis de 5-HPETE (Fig. 12E). Luego, el 5-HPETE se convierte en LTA_4. (Obsérvese que el LTA_4 posee un epóxido. Los **epóxidos** son anillos de tres miembros que contienen un grupo funcional éter.) El LTC_4 se forma por la adición de GSH. El LTC_4 se convierte en LTD_4 por la eliminación de ácido glutámico. Finalmente, el LTE_4 se forma cuando se elimina la glicina del LTD_4. No está clara la función de los leucotrienos, aunque se cree que algunos actúan como atractantes químicos o como señales intracelulares.

FIGURA 12E Síntesis de leucotrienos seleccionados.
LTC_4, LTD_4 y LTE_4 son componentes de la sustancia de reacción lenta de la anafilaxia.

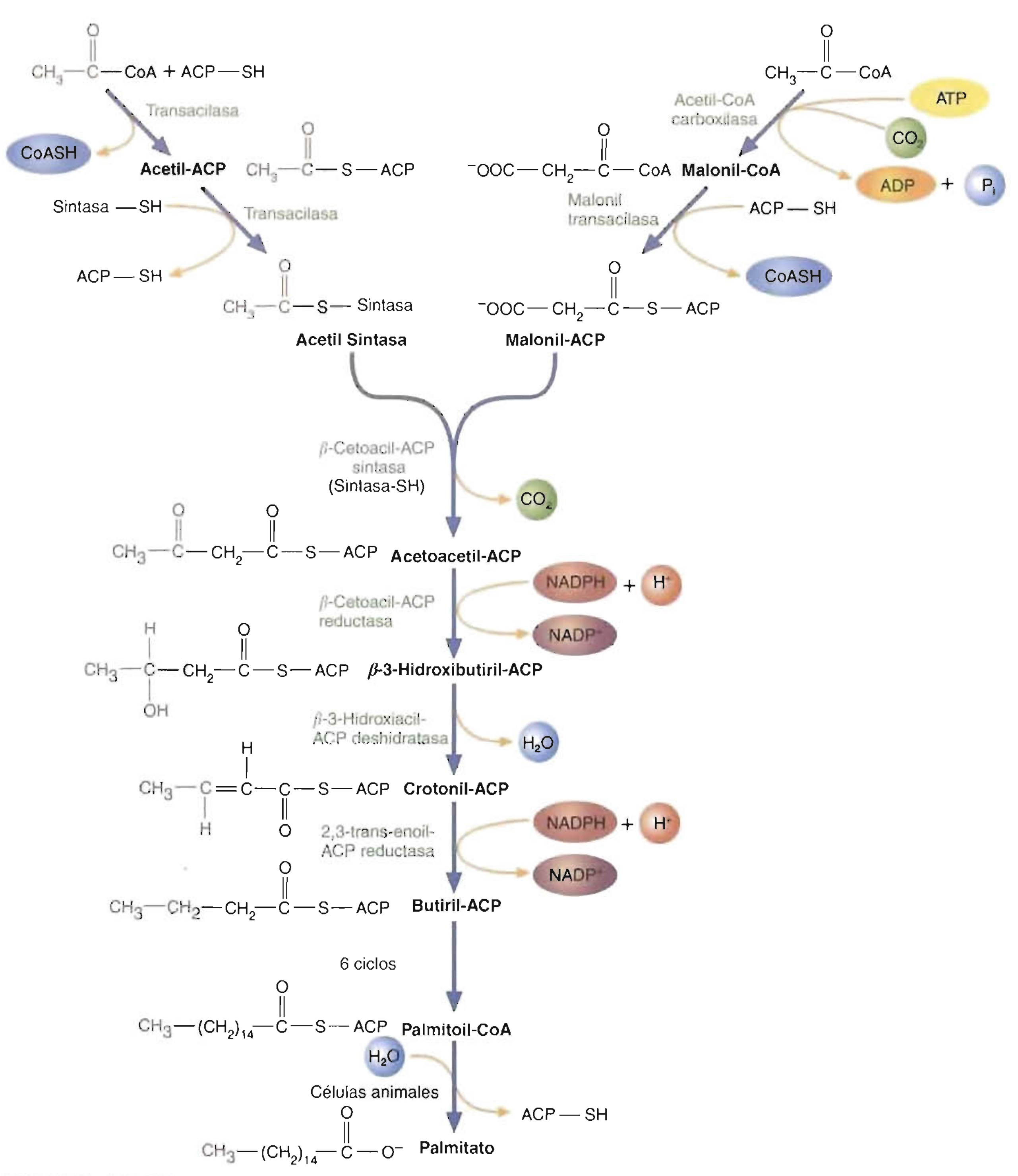


FIGURA 12-10
Biosíntesis de los ácidos grasos.
Durante cada ciclo de la biosíntesis de los ácidos grasos, la molécula se alarga en dos carbonos. La mayoría de las reacciones de esta ruta se producen en un complejo multienzimático.

Los ácidos grasos saturados que contienen hasta 16 átomos de carbono (palmitato) se ensamblan en el citoplasma a partir de la acetil-CoA. Dependiendo de las condiciones celulares, el producto de este proceso (palmitoil-CoA) puede utilizarse directamente en la síntesis de diversas clases de lípidos (p. ej., triacilgliceroles o

fosfolípidos) o puede entrar en las mitocondrias. Varias enzimas mitocondriales catalizan las reacciones de elongación y desaturación. El retículo endoplásmico (RE) posee varias enzimas semejantes. Sin embargo, una observación más detenida descubre diferencias notables entre la síntesis de los ácidos grasos y la β-oxidación.

1. **Localización.** La síntesis de los ácidos grasos tiene lugar de forma predominante en el citoplasma. (Recuerde que la β-oxidación tiene lugar dentro de las mitocondrias y los peroxisomas.)
2. **Enzimas.** Las enzimas que catalizan la síntesis de los ácidos grasos tienen una estructura significativamente diferente de las de la β-oxidación. En los eucariotas, la mayoría de estas enzimas forman un complejo multienzimático que se denomina ácido graso sintasa.
3. **Enlace tioéster.** Los intermediarios de la síntesis de los ácidos grasos están ligados mediante un enlace tioéster a la **proteína transportadora del acilo** (ACP), un componente de la ácido graso sintasa. (Recuerde que durante la β-oxidación los grupos acilo están unidos a la CoASH mediante un enlace tioéster.) Los grupos acilo están unidos a la ACP y la CoASH por un grupo prostético de fosfopanteteína (Fig. 12-11).
4. **Transportadores electrónicos**. Al contrario que en la β-oxidación, que produce NADH y $FADH_2$, la síntesis de ácidos grasos consume NADPH.

La síntesis de los ácidos grasos comienza con la carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil-CoA. (Se considera que la carboxilación de la acetil-CoA es una reacción de activación. Esta reacción es necesaria en la síntesis de los ácidos grasos debido a que la condensación de los grupos acetilo es una reacción endergónica. Como la malonil-CoA se descarboxila durante la reacción de condensación, se genera energía suficiente para impulsar el proceso.) La carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil-CoA (Fig. 12-12), que cataliza la acetil-CoA carboxilasa, es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de los ácidos grasos. La acetil-CoA carboxilasa de los mamíferos contiene dos subunidades, cada una de ellas con un cofactor biotina unido. (Recuerde que la biotina actúa como transportador de CO_2. Véase la pág. 249.) La síntesis de los ácidos grasos comienza cuando los dímeros de acetil-CoA carboxilasa se agregan para formar polímeros filamentosos de peso molecular elevado (de cuatro millones a ocho millones de D). La polimerización comienza cuando aumenta la concentración citoplásmica de citrato. La despolimerización se produce cuando las concentraciones de malonil-CoA o de palmitoil-CoA se elevan. La fosforilación de la acetil-CoA carboxilasa en respuesta a la

FIGURA 12-11

Comparación del grupo fosfopanteteína en la proteína transportadora del acilo (ACP) y en la coenzima A (CoASH). Los ácidos grasos están unidos a su grupo prostético en la ACP durante la biosíntesis y en la CoASH durante la β-oxidación.

FIGURA 12-12
Síntesis de malonil-CoA.
La reacción comienza con una carboxilación dependiente del ATP del cofactor biotina en la enzima. La carboxilasa extrae un protón del carbono α de la acetil-CoA para generar un carbanión reactivo. El carbanión ataca al carbono de la carboxibiotina para dar malonil-CoA y biotinato. El biotinato se protona por la enzima para regenerar su forma biotina.

unión del glucagón o de la adrenalina también produce la despolimerización. Por el contrario, la insulina facilita la agregación de los dímeros por fosforilación y activación de un fosfato asociado. El dímero de carboxilasa se agrega y sólo se activa en su forma desfosforilada.

Las reacciones restantes de la síntesis de los ácidos grasos tienen lugar en el complejo multienzimático ácido graso sintasa. Este complejo, el lugar de siete actividades enzimáticas y de la ACP, es un dímero de 500 kD. Debido a que los enormes polipéptidos del dímero se encuentran dispuestos en una configuración cabeza-cola, pueden formarse de forma simultánea dos ácidos grasos. En la Figura 12-13 se muestra el mecanismo que se ha propuesto para la síntesis de palmitato.

Durante la primera reacción de la síntesis de los ácidos grasos, la acetil transacilasa cataliza la transferencia del grupo acetilo desde una molécula de acetil-CoA al grupo SH de un residuo de cisteína de la β-cetoacil-ACP sintasa. Se forma malonil-ACP cuando la malonil transacilasa transfiere un grupo malonilo desde la malonil-CoA al grupo SH del grupo prostético panteteína del ACP (reacción 3) en la que se forma acetoacetil-ACP (Fig. 12-14).

Durante los tres pasos siguientes, que consisten en dos reducciones y una deshidratación, el grupo acetoacetilo se convierte en grupo butirilo. (El brazo flexible de fosfopanteteína actúa como una atadura para que el sustrato no difunda lejos entre los pasos del ciclo. Esto incrementa mucho la velocidad y eficacia del proceso.) La β-cetoacil-ACP reductasa cataliza la reducción de la acetoacetil-ACP para formar β-hidroxibutiril-ACP. La β-hidroxiacil-ACP deshidrasa cataliza posteriormente una deshidratación, formando así crotonil-CoA. La butiril-ACP se produce cuando la 2,3-*trans*-enoil-ACP reductasa reduce el doble enlace de la crotonil-ACP. En el último paso del primer ciclo de la síntesis de los ácidos grasos, se transfiere el grupo butirilo desde el grupo panteteína al residuo de cisteína de la β-cetoacil-ACP sintasa. El grupo ACP-SH recién liberado une ahora otro grupo malonilo y se repite el proceso. Finalmente, se sintetiza la palmitoil-ACP. Ahora se libera el grupo palmitoilo de la ácido graso sintasa cuando la tioesterasa lo convierte en palmitato.

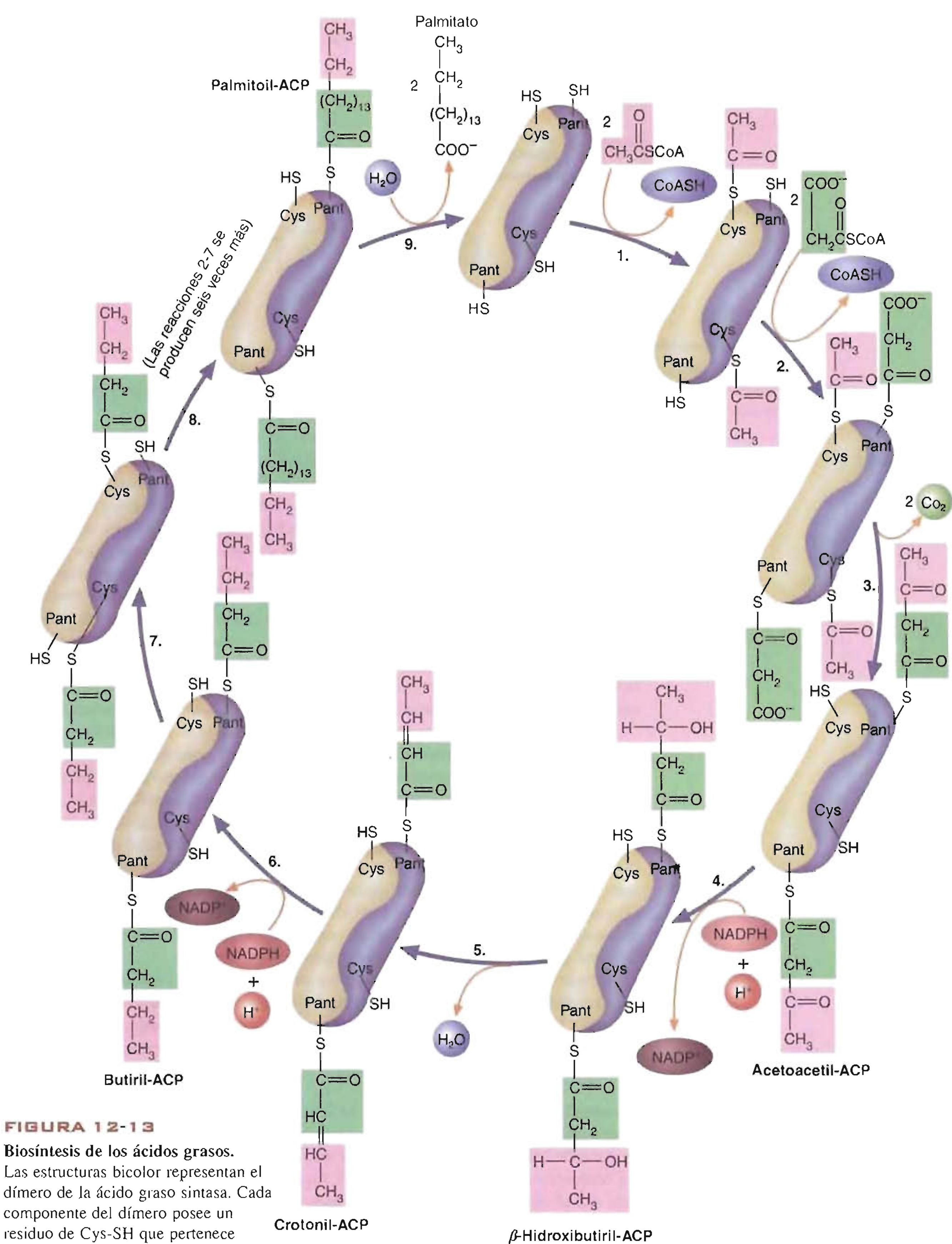


FIGURA 12-13

Biosíntesis de los ácidos grasos. Las estructuras bicolor representan el dímero de la ácido graso sintasa. Cada componente del dímero posee un residuo de Cys-SH que pertenece a la β-cetoacil ACP sintasa y pant-SH, el grupo sulfhidrilo panteteína de la ACP. (Obsérvese que los ácidos grasos están unidos por un enlace tioéster al tiol terminal de la ACP durante la biosíntesis de los ácidos grasos y de la CoA durante la β-oxidación.) Las enzimas que catalizan las reacciones de los pasos 1 a 6 son: (1) acetil-CoA-ACP-transacilasa, (2) malonil-CoA-ACP transacilasa, (3) β-cetoacil-ACP sintasa, (4) β-cetoacil-ACP reductasa, (5) β-hidroxiacil-ACP deshidrasa, y (6) 2,3-*trans*-enoil-ACP reductasa. En el paso 7 el grupo butirilo se transfiere del ACP al grupo cisteína-SH de la β-cetoacil-ACP sintasa por la acetil-CoA-ACP transacilasa. El paso 8 del esquema representa los pasos repetidos de condensación y reducción necesarios para producir palmitoil-ACP. El paso 9, la liberación del complejo enzimático del producto del proceso, ácido palmítico, está catalizado por una tioesterasa.

Malonil-ACP + Enzima acetilada
β-Cetoacil-ACP sintasa (CSasa)
CO_2
Intermediario tetrahédrico
β-Cetoacil-ACP sintasa (CSasa)
H^+ Enzima-SH
Acetoacetil-ACP

FIGURA 12-14
Formación de acetoacetil-ACP.
Se muestra el grupo acetilo unido a la enzima β-cetoacetil-ACP sintasa a través de un residuo de cisteína. El grupo carbonilo del grupo acetilo es atacado por el carbono central del grupo malonilo unido a la ACP Al romperse el enlace C—S se genera acetoacetil-ACP.

PREGUNTA 12.8



La *artritis reumatoide* es una enfermedad autoinmunitaria en la que las articulaciones se encuentran inflamadas de manera crónica. (En las **enfermedades autoinmunitarias**, el sistema inmunitario no diferencia entre lo propio y lo ajeno. Por razones aún desconocidas, se estimulan linfocitos específicos que producen anticuerpos, que se denominan *autoanticuerpos*. Estas moléculas se unen a antígenos de superficie de las propias células del paciente como si fueran ajenas. Luego, el sistema inmunitario ataca a las células afectadas.) En la artritis reumatoide, varias clases de linfocitos infiltran el tejido articular como parte del proceso inflamatorio. La pérdida de enzimas lisosómicas por las células que fagocitan activamente (neutrófilos y macrófagos) conduce a un mayor deterioro tisular. La respuesta inflamatoria se perpetúa por la liberación de eicosanoides por los linfocitos. Se han implicado a diversos eicosanoides. Por ejemplo, los macrófagos producen PGE_4, TXA_2 y varios leucotrienos.

Actualmente, el tratamiento de la artritis reumatoide trata de suprimir el dolor y la inflamación. (La enfermedad continúa progresando a pesar del tratamiento.) Debido a su bajo coste y su relativa seguridad, la aspirina desempeña un papel importante en el tratamiento de la artritis reumatoide y otros tipos de inflamación. Determinados esteroides son más potentes que la aspirina para reducir la inflamación, esto es, inmediatamente y espectacularmente reducen los síntomas dolorosos. Sin embargo, los esteroides tienen efectos secundarios graves. Por ejemplo, la prednisona puede deprimir el sistema inmunitario, redistribuye la grasa hacia el cuello («joroba de búfalo») y produce cambios graves de la conducta. Por éstas y otras razones, la prednisona sólo se utiliza para tratar la artritis reumatoide cuando el paciente no responde a la aspirina o a fármacos semejantes.

Revise los efectos de la aspirina y los esteroides sobre el metabolismo de los eicosanoides que se describe en el Recuadro de Interés Especial 12.2. Sugiera una razón por la que esta información tiene importancia para el tratamiento de la artritis reumatoide. ¿Explica esto la diferencia entre la eficacia de la aspirina y los esteroides en el tratamiento de la inflamación?

PREGUNTA 12.9

El consumo excesivo de fructosa se ha relacionado con un trastorno denominado *hipertrigliceridemia* (concentración elevada de triacilgliceroles en sangre). La fuente más habitual de fructosa para la mayoría de los americanos es la sacarosa. (El contenido de fructosa de las frutas y vegetales frescos es tan bajo en comparación con el de muchos alimentos procesados que sería difícil consumir cantidades suficientes para inducir hipertrigliceridemia.) La sacarosa se digiere en el intestino delgado por la enzima sacarasa, que proporciona una molécula de fructosa y otra de glucosa. La digestión es tan rápida que las concentraciones sanguíneas de estos azúcares es bastante elevada. Recuerde que una vez que llega al hígado, la fructosa se convierte en fructosa-1-fosfato (véase la pág. 261). Actualmente se cree que la fructosa-1-fosfato estimula la actividad hexoquinasa D. (Aparentemente, la fructosa-1-fosfato se une e inactiva una proteína que deprime la actividad hexoquinasa D.)

Tras revisar el metabolismo de la fructosa y la síntesis de los ácidos grasos y los triacilgliceroles, sugiera por qué puede producirse hipertrigliceridemia como consecuencia de una alimentación con abundante sacarosa.

ELONGACIÓN Y DESATURACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS La elongación y desaturación de los ácidos grasos que se sintetizan en el citoplasma o de los obtenidos en la alimentación se realizan principalmente por enzimas del RE. (Estos procesos sólo tienen lugar cuando la alimentación proporciona un suministro incorrecto de los ácidos grasos adecuados). La elongación y la desaturación (formación de dobles enlaces) de los ácidos grasos son especialmente importantes en la regulación de la fluidez de la membrana y de la síntesis de los precursores de diversos derivados de los ácidos grasos, como los eicosanoides. Por ejemplo, la mielinización (un proceso en el que se forman vainas de mielina alrededor de determinadas células nerviosas) depende especialmente de las reacciones de síntesis de ácidos grasos del RE. Los ácidos grasos saturados de cadena larga y los monoinsaturados son constituyentes importantes de los cerebrósidos y sulfátidos de la mielina. Las células aparentemente regulan la fluidez de la membrana ajustando los tipos de ácidos grasos que se incorporan en los lípidos de la membrana. Por ejemplo, se incorporan más ácidos grasos insaturados cuando el tiempo es frío. (Recuerde que los ácidos grasos insaturados tienen un punto de congelación menor que los ácidos grasos saturados. Véanse las págs. 332-333.) Cuando la alimentación no proporciona un número suficiente de estas moléculas, las rutas de biosíntesis de los ácidos grasos se activan. Aunque la elongación y la desaturación son procesos muy integrados, para mayor claridad los consideraremos de forma separada.



La elongación de los ácidos grasos en el RE, que utiliza unidades de dos carbonos que proporciona la malonil-CoA, es un ciclo de reacciones de condensación, reducción, deshidratación y reducción semejante al que se observa en la síntesis citoplásmica de los ácidos grasos. Al contrario que en el proceso citoplásmico, los intermediarios del proceso de elongación del RE son ésteres de CoA. Estas reacciones pueden alargar ácidos grasos tanto saturados como insaturados. Los equivalentes reductores los proporciona el NADPH.

$$R{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}S{-}CoA \;+\; {}^{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}CH_2{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}S{-}CoA \longrightarrow R{-}CH_2{-}CH_2{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}S{-}CoA \;+\; CO_2 \;+\; CoASH$$

Las moléculas de acil-CoA se desaturan en las membranas del RE en presencia de NADH y O_2. Todos los componentes del sistema desaturasa son proteínas integrales de membrana que aparentemente están distribuidas al azar sobre la cara citoplásmica del RE. La asociación de la citocromo b_5 reductasa (una flavoproteína), el citocromo b_5 y las desaturasas dependientes del oxígeno constituyen un sistema de transporte electrónico. Este sistema introduce de forma eficaz dobles enlaces en los ácidos grasos de cadena larga (Fig. 12-15). Tanto la flavoproteína como el citocromo b_5 (que se encuentran en una proporción aproximada de 1:30) tienen péptidos hidrófobos que anclan las proteínas a la membrana microsómica. Los animales tienen de forma característica desaturasas Δ^9, Δ^6 y Δ^5 que utilizan los electrones que aporta el NADH por el sistema de transporte electrónico para activar el oxígeno necesario para crear el doble enlace. Los vegetales contienen otras desaturasas para las posiciones Δ^{12} y Δ^{15}.

Debido a que los sistemas de elongación y desaturación están próximos uno de otro en la membrana microsómica, se producen diversos ácidos poliinsaturados de cadena larga. Un ejemplo destacado de esta interacción es la síntesis del ácido araquidónico ($20{:}4^{\Delta 5,8,11,14}$) a partir del ácido linoleico ($18{:}2^{\Delta 9,12}$).

SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS EN LOS VEGETALES Debido a que se ha investigado menos y a diversos problemas técnicos, la síntesis de ácidos grasos

CONCEPTOS CLAVE 12.3

En los animales, los ácidos grasos se sintetizan en el citoplasma a partir de acetil-CoA y malonil-CoA. Las enzimas microsómicas alargan y desaturan los ácidos grasos recién sintetizados, así como los que se obtienen de la alimentación.

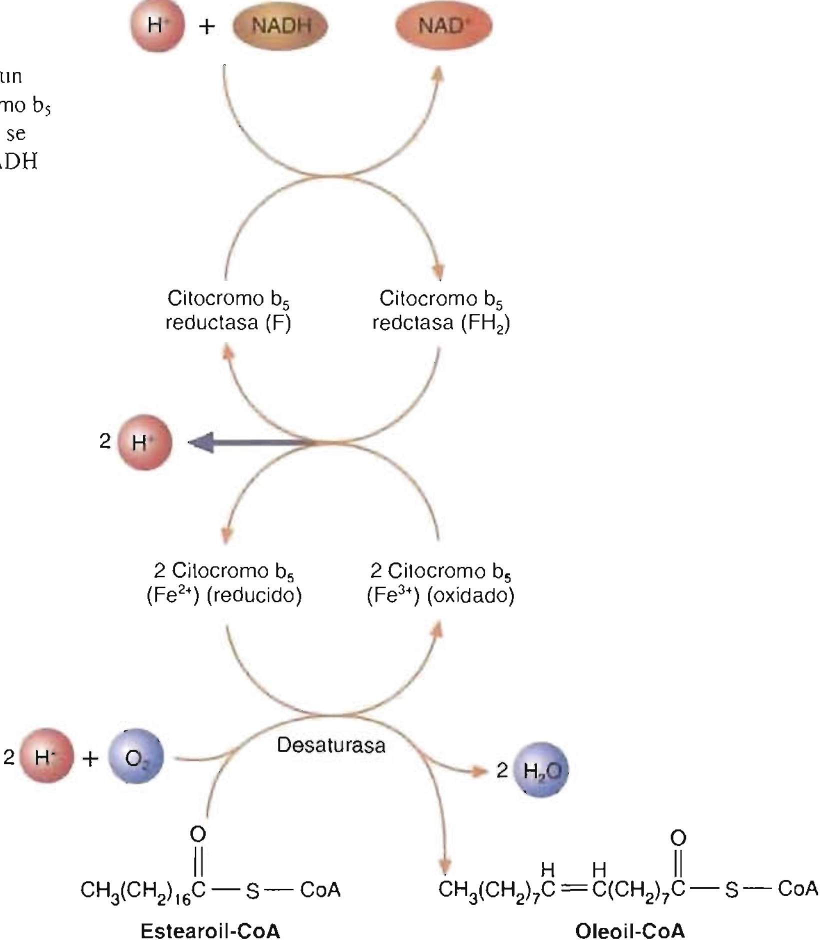


FIGURA 12-15
Desaturación de la estearoil-CoA.
La desaturasa utiliza los electrones que proporciona un sistema de transporte electrónico formado por citocromo b_5 reductasa y citocromo b_5 para activar al oxígeno (no se muestra) necesario para crear el doble enlace. El NADH es el donador de electrones.



en los vegetales se conoce peor que el proceso en los animales. Sin embargo, se sabe que la síntesis de los ácidos grasos en los vegetales tiene varias características notables:

1. **Localización.** La síntesis de ácidos grasos en los vegetales parece estar limitada a los cloroplastos. Una isoenzima de la piruvato deshidrogenasa de los cloroplastos cataliza la conversión de piruvato en acetil-CoA. El piruvato también procede del gliceraldehído–3-fosfato, un intermediario del **ciclo de Calvin**, una ruta de biosíntesis en la que las plantas incorporan el CO_2 en moléculas de azúcar. (El ciclo de Calvin se presenta en el Capítulo 13.)
2. **Control metabólico.** No se conoce bien la regulación de la síntesis de los ácidos grasos en los vegetales. No está claro si la reacción que cataliza la acetil-CoA carboxilasa es un paso limitante de la velocidad en los vegetales, debido a que la malonil-CoA se utiliza en otras rutas de biosíntesis (p. ej., síntesis de flavonoides). (Recuerde que esta reacción es el paso limitante de la velocidad en los animales, véase la pág. 390.)
3. **Enzimas.** Las estructuras de la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintasa de los vegetales se parece más a sus correspondientes de *Escherichia coli* que a las de las células animales. Por ejemplo, en *E. coli* y en los vegetales cada una de las actividades enzimáticas de la ácido graso sintasa se encuentra en una proteína diferente.

Regulación del metabolismo de los ácidos grasos en los mamíferos



Dado que los animales tienen unos requerimientos energéticos tan variables, el metabolismo de los ácidos grasos (*la* fuente principal de energía de los animales) está regulado cuidadosamente (Fig. 12-16). Se utilizan mecanismos reguladores a corto

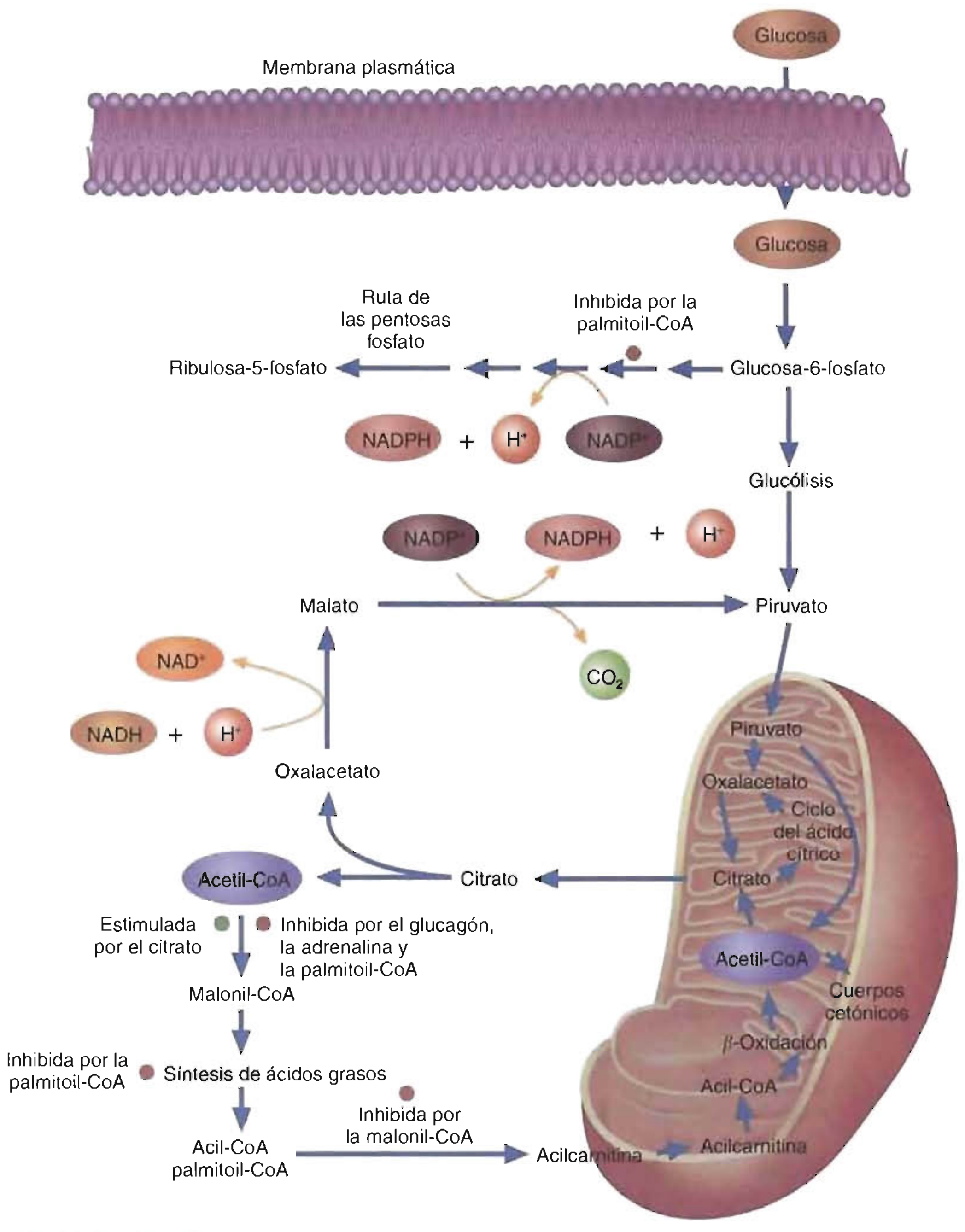


FIGURA 12-16

Metabolismo intracelular de los ácidos grasos.

Los ácidos grasos se sintetizan en el citoplasma a partir de la acetil-CoA, que se forma dentro de la mitocondria. Debido a que la membrana interna es impermeable a la acetil-CoA, se transfiere al exterior en forma de citrato. Éste se produce a partir de acetil-CoA y oxalacetato en el ciclo del ácido cítrico, una ruta de reacciones de la matriz mitocondrial. El citrato se transfiere al citoplasma cuando está suprimida la β-oxidación, es decir, cuando las células necesitan poca energía. Posteriormente se rompe para formar oxalacetato y acetil-CoA. Cuando la célula necesita más energía, los ácidos grasos se transportan a la mitocondria en forma de derivados de acilcarnitina. La acil-CoA se degrada a acetil-CoA por la β-oxidación. (En el Capítulo 9 se describe la posterior oxidación de la acetil-CoA para generar ATP.) Obsérvese que las hormonas glucagón y adrenalina y los sustratos citrato, malonil-CoA y palmitoil-CoA son reguladores importantes del metabolismo de los ácidos grasos. El metabolismo de los ácidos grasos y el metabolismo de los hidratos de carbono se encuentran interrelacionados. El piruvato, el precursor de la acetil-CoA, es un producto de la glucólisis. Una porción del NADPH, el reductor que se requiere para la síntesis de los ácidos grasos, se genera mediante varias reacciones de la ruta de las pentosas fosfato. El NADPH se produce también al convertirse el malato, que se forma por la reducción del oxalacetato, en piruvato.

plazo y a largo plazo. En la mayoría de la regulación a corto plazo (medida en minutos) las actividades de moléculas ya existentes de las enzimas reguladoras clave se modifican por las hormonas. Por ejemplo, el glucagón o la adrenalina (que se liberan cuando las reservas energéticas del cuerpo son bajas o cuando hay un aumento de los requerimientos energéticos) estimulan la fosforilación de varias enzimas. Cuando se fosforila la lipasa sensible a las hormonas de los adipocitos, cataliza la hidrólisis de los triacilgliceroles. (La liberación de noradrenalina por las neuronas del sistema nervioso simpático y la hormona de crecimiento por la hipófisis también activan la lipasa sensible a las hormonas.) Como resultado, se liberan ácidos grasos a la sangre. Las hormonas también regulan la utilización de los ácidos grasos en los tejidos. Por ejemplo, la acetil-CoA carboxilasa se inhibe por el glucagón. Al descender la concentración celular de malonil-CoA, desciende la síntesis de ácidos grasos. Debido a que la malonil-CoA inhibe la actividad carnitina aciltransferasa I, los ácidos grasos pueden transportarse al interior de las mitocondrias, donde se degradan para generar energía. El efecto de la insulina sobre el metabolismo de los ácidos grasos es el opuesto al del glucagón y la adrenalina. La secreción de insulina en respuesta a las concentraciones elevadas de glucosa en sangre estimula la lipogénesis. La insulina estimula la síntesis de los ácidos grasos al estimular la fosforilación de la acetil-CoA carboxilasa (mediante un proceso que es independiente del mecanismo del cAMP-proteína quinasa). De forma simultánea, la lipólisis se inhibe por la inhibición por la insulina de la activación de la proteína quinasa por medio del cAMP. Este último proceso conduce a la desfosforilación (y, por lo tanto, a la inactivación) de la lipasa sensible a las hormonas.

PREGUNTA 12.10

Identifique cada una de las biomoléculas siguientes:

(a) $CH_3-CH(OH)-CH_2-C(=O)-O^-$

(b) $CoA-S-C(=O)-CH_2-C(=O)-O^-$

(c) [estructura de biotina: anillo con HN, NH, C=O, S y R]

(d) $CH_3-C(=O)-S-ACP$

¿Cuál es la función de cada una de ellas?

12.2. METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS DE LA MEMBRANA

La bicapa lipídica de las membranas celulares está formada principalmente por fosfolípidos y esfingolípidos. Tras considerar el metabolismo de estas clases de lípidos, se describen brevemente varios aspectos de la biogénesis de las membranas.

Metabolismo de los fosfolípidos

CONCEPTOS CLAVE 12.4

La síntesis de fosfolípidos tiene lugar en la membrana del REL. Tras sintetizarse, los fosfolípidos se remodelan alterando su composición de ácidos grasos. La degradación de los fosfolípidos está catalizada por varias fosfolipasas.

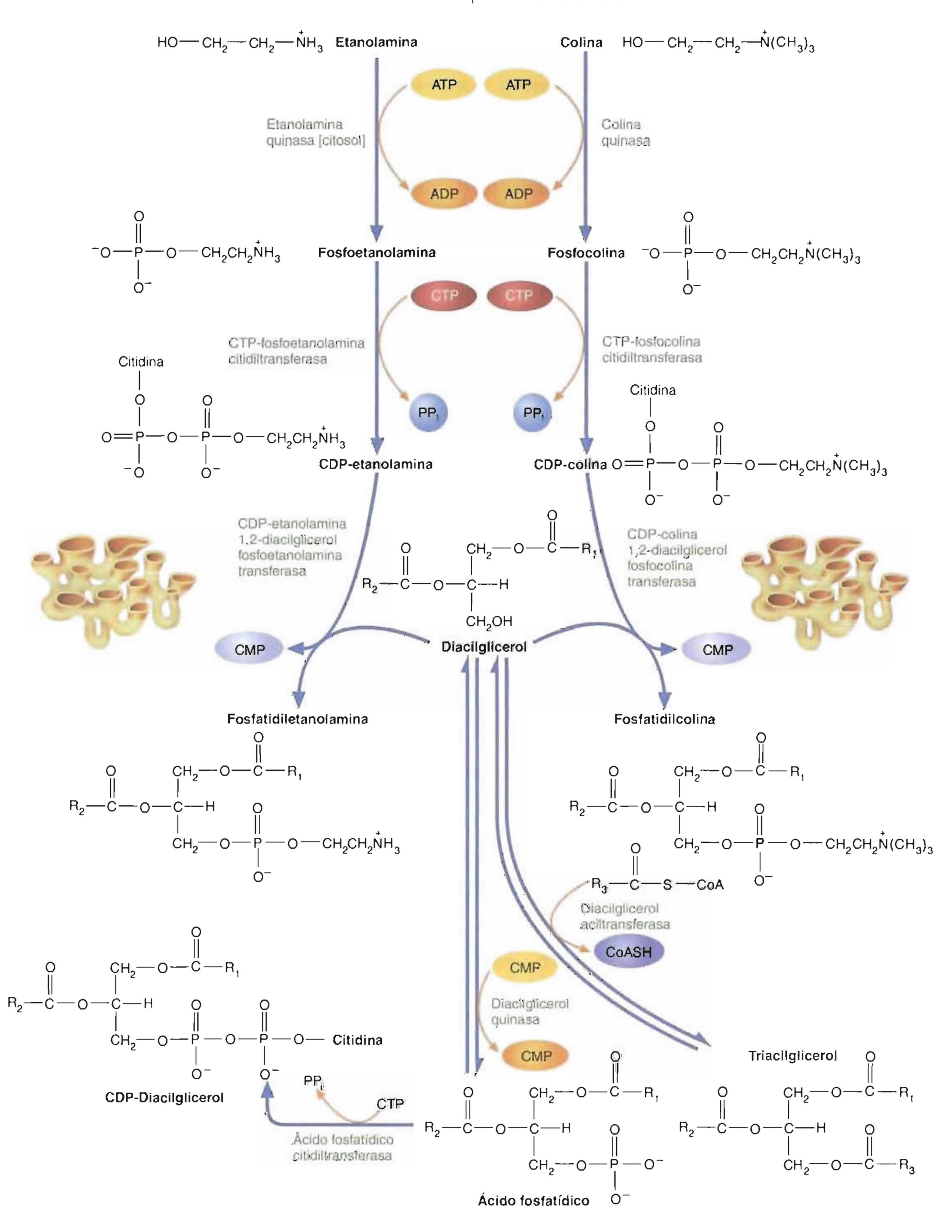
La mayoría de las reacciones de la biosíntesis de los lípidos parecen encontrarse en el retículo endoplásmico liso (REL), aunque también se han detectado varias actividades enzimáticas en el complejo de Golgi. Debido a que cada enzima es una proteína de la membrana con su lugar activo hacia el citoplasma, la biosíntesis de fosfolípidos se produce en la interfase de la membrana del RE y el citoplasma. La composición de ácidos grasos de los fosfolípidos cambia un poco tras su síntesis. (Típicamente, los ácidos grasos insaturados sustituyen a los ácidos grasos saturados que se incorporan durante la síntesis.) La mayor parte de este remodelado lo realizan varias fosfolipasas y acil transferasas. Presumiblemente, este proceso permite a una célula ajustar la fluidez de sus membranas.

La síntesis de fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina es semejante (Fig. 12-17). La síntesis de fosfatidiletanolamina comienza en el citoplasma cuando la etanolami-

FIGURA 12-17

Síntesis de fosfolípidos.

Una vez que han entrado en la célula la etanolamina o la colina, se fosforilan y convierten en derivados de CDP. Luego se forman la fosfatildiletanolamina o la fosfatidilcolina cuando el diacilglicerol reacciona con el derivado de CDP. Se produce un triacilglicerol cuando un diacilglicerol reacciona con una acil-CoA. El CDP-diacilglicerol que se forma a partir del ácido fosfatídico y la CTP es un precursor de varios fosfolípidos, como el fosfatidilglicerol y el fosfatidilinositol.


Etanolamina
Colina
ATP
ATP
Etanolamina quinasa [citosol]
Colina quinasa
ADP
ADP
Fosfoetanolamina
Fosfocolina
CTP
CTP
CTP-fosfoetanolamina citidiltransferasa
CTP-fosfocolina citidiltransferasa
Citidina
PP
PP
CDP-etanolamina
CDP-colina
CDP-etanolamina 1,2-diacilglicerol fosfoetanolamina transferasa
CDP-colina 1,2-diacilglicerol fosfocolina transferasa
CMP
Diacilglicerol
CMP
Fosfatidiletanolamina
Fosfatidilcolina
CoA
Diacilglicerol aciltransferasa
CoASH
CMP
Diacilglicerol quinasa
CMP
Triacilglicerol
CDP-Diacilglicerol
CTP
Ácido fosfatídico citidiltransferasa
Ácido fosfatídico

na entra en la célula y se fosforila inmediatamente. A continuación, la fosfoetanolamina reacciona con CTP (citidina trifosfato) para formar el intermediario activado CDP-etanolamina. Se emplean varios nucleótidos como portadores de energía elevada de moléculas específicas. Los derivados de CDP poseen un papel importante en la transferencia de grupos de cabeza polares en la síntesis de fosfoglicéridos. (Recuerde que la UDP desempeña una función similar en la síntesis de glucógeno. Véase la pág. 264.) La CDP-etanolamina se convierte en fosfatidiletanolamina cuando reacciona con el diacilglicerol (DAG). Esta reacción está catalizada por una enzima del retículo endoplásmico. Como se ha señalado, la biosíntesis de fosfatidilcolina es similar a la de fosfatidiletanolamina. La colina que se requiere en esta ruta se obtiene de la alimentación. Sin embargo, la fosfatidilcolina se sintetiza también en el hígado a partir de fosfatidiletanolamina (Fig. 12-18). La fosfatidiletanolamina se metila en tres pasos por la enzima fosfatidiletanolamina-N-metiltransferasa para formar el producto trimetilado fosfatidilcolina. En este conjunto de reacciones la *S-adenosilmetionina* (SAM) es el donador de metilo. (En el Capítulo 14 se presenta el papel de la SAM en los procesos de metilación celular.)

La fosfatidilserina se genera en una reacción en la que se intercambia el residuo de etanolamina de la fosfatidiletanolamina por serina (Fig. 12-19). Esta reacción, que está catalizada por una enzima del RE, es reversible. En las mitocondrias, la fosfatidilserina se convierte en fosfatidiletanolamina en una reacción de descarboxilación.

FIGURA 12-18

Conversión de la fosfatidiletanolamina en fosfatidilcolina.

En el Capítulo 14 se consideran las reacciones de metilación que utilizan la S-adenosilmetionina (SAM). (SAH es la abreviatura de la S-adenosilhomocisteína.)

Fosfatidiletanolamina
SAM
SAH
N-Metilfosfatidiletanolamina
SAM
SAH
N,N-Dimetilfosfatidiletanolamina
SAM
SAH
Fosfatidilcolina

 Biogénesis de las membranas

Las membranas son estructuras dinámicas, por lo cual los mecanismos por los que se sintetizan son complejos. Actualmente se conoce poco sobre la síntesis de las bicapas de la membrana, excepto las características siguientes: el movimiento de los fosfolípidos a través de las membranas y la transferencia intracelular de los fosfolípidos entre las membranas.

Si las moléculas de fosfolípido recién sintetizadas permanecieran sólo sobre la cara citoplásmica del RE, se formaría una monocapa. Sin embargo, la transferencia sin ayuda de los fosfolípidos de la bicapa es extremadamente lenta. (Por ejemplo, se han medido vidas medias de 8 días a través de una membrana artificial.) Actualmente se cree que un proceso que se conoce como *cambio de localización de fosfolípidos* es el responsable del mantenimiento de la bicapa en las membranas (Fig. 12F). El movimiento transmembrana de las moléculas de fosfolípidos (o flip-flop), que puede tener lugar en menos de 15 segundos parece producirse por medio de proteínas que cambian de localización a los fosfolípidos. Se ha identificado una proteína (que suele denominarse *flipasa*) que transfiere los fosfolípidos que contienen colina a través de la membrana del RE. Dado que el grupo de cabeza polar hidrófilo de una molécula de fosfolípido probablemente es el responsable de la baja velocidad de cambio de localización espontáneo, se cree que en la transferencia de la fosfatidilcolina participa una interacción entre la flipasa y los grupos de cabeza polares. El cambio de localización da lugar a una mayor concentración de fosfatidilcolina que de otros fosfolípidos en el lado de la luz de la membrana del RE. Por lo tanto, este proceso es responsable, en parte, de la asimetría de la membrana que se ha tratado en el Capítulo 11.

Se han propuesto dos mecanismos para explicar el transporte de los fosfolípidos desde el RE a otras membranas celulares: transferencia por medio de proteínas y un proceso vesicular. Varios experimentos han demostrado que las proteínas hidrosolubles, conocidas como *proteínas de intercambio de fosfolípidos*, pueden unirse a moléculas específicas de fosfolípidos y transferirlos a otra bicapa. No se comprende con claridad el transporte vesicular de fosfolípidos y de proteínas de membrana en estructuras conocidas como *vesículas de transición* desde el RE al complejo de Golgi. Sin embargo, las pruebas de la transferencia de material de la luz desde el RE a las cisternas de Golgi apoyan con claridad el transporte vesicular.



FIGURA 12F Cambio de localización de los fosfolípidos recién sintetizados.
La transferencia de las moléculas de fosfolípidos seleccionadas permite un crecimiento equilibrado de la bicapa.

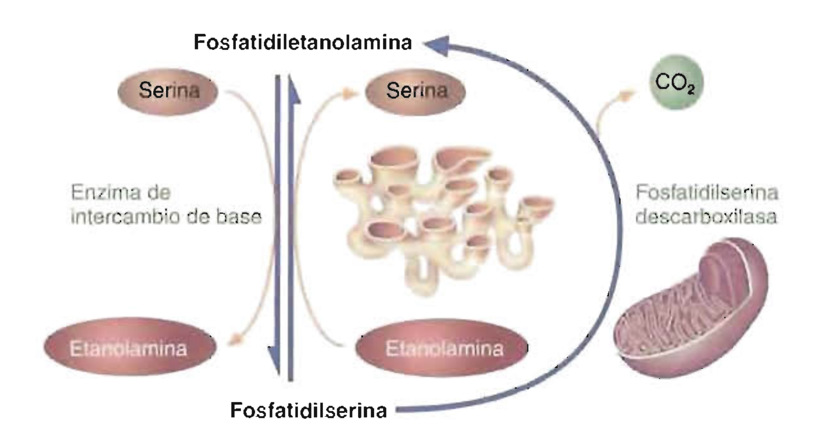


FIGURA 12-19
Síntesis de fosfatidilserina.
La fosfatidilserina puede sintetizarse a partir de fosfatidiletanolamina por una reacción en la que se intercambian los grupos de cabeza polares. La fosfatidiletanolamina también puede sintetizarse a partir de fosfatidilserina por una reacción de descarboxilación. Esta reacción es una fuente importante de etanolamina en muchos eucariotas.

El recambio de los fosfolípidos es rápido. (El **recambio** es la velocidad a la que se degradan todas las moléculas de una estructura y se sustituyen por moléculas recién sintetizadas.) Por ejemplo, en las células animales se requieren aproximadamente dos divisiones celulares para sustituir la mitad del número de moléculas de fosfolípidos. Los fosfoglicéridos se degradan por las fosfolipasas. Cada fosfolipasa, que cataliza la rotura de un enlace específico en las moléculas de fosfoglicérido, se denomina de acuerdo con el enlace que rompe. Las fosfolipasas A_1 y A_2, que hidrolizan los enlaces éster de los fosfoglicéridos en C-1 y C-2, respectivamente, contribuyen al remodelado fosfolipídico que se ha descrito.

Metabolismo de los esfingolípidos

Recuerde que los esfingolípidos de los animales contienen ceramida, un derivado del aminoalcohol esfingosina. La síntesis de la ceramida comienza con la condensación de la palmitoil-CoA con la serina para formar 3-cetoesfinganina. Esta reacción la cataliza la 3-cetoesfinganina sintasa, una enzima que requiere piridoxal-5′-fosfato. (Debido a que el piridoxal-5′-fosfato desempeña un papel importante en el meta-

CONCEPTOS CLAVE 12.5

La síntesis de todos los esfingolípidos comienza con la producción de ceramida. Los esfingolípidos se degradan dentro de los lisosomas mediante enzimas hidrolíticas específicas.

FIGURA 12-20
3′-Fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS).
El PAPS es un donador de sulfato de energía elevada.

bolismo de los aminoácidos, en el Capítulo 14 se considera la función bioquímica de esta coenzima.) A continuación se reduce la 3-cetoesfinganina por el NADPH para formar esfinganina. La esfinganina se convierte en ceramida en un proceso en dos pasos con participación de acil-CoA y $FADH_2$. La esfingomielina se forma cuando la ceramida reacciona con fosfatidilcolina. (En otra reacción, se utiliza la CDP-colina en lugar de la fosfatidilcolina.) Cuando la ceramida reacciona con la UDP-glucosa, se produce glucosilceramida (un cerebrósido común, al que también se denomina glucosilcerebrósido). El galactocerebrósido, un precursor de otros glucolípidos, se sintetiza cuando la ceramida reacciona con la UDP-galactosa. Los sulfátidos se sintetizan cuando los galactocerebrósidos reaccionan con la molécula donadora de sulfato **3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato** (PAPS) (Fig. 12-20). La transferencia de los grupos sulfato la cataliza la enzima microsómica sulfotransferasa. Los esfingolípidos se degradan dentro de los lisosomas. Recuerde que se producen enfermedades específicas, denominadas esfingolipidosis (pág. 344), cuando no existen o tienen defectos las enzimas que se requieren para degradar estas moléculas. En la Figura 12-21 se presenta la síntesis de la esfingomielina y los glucoesfingolípidos.

12.3 METABOLISMO DE LOS ISOPRENOIDES

Los isoprenoides se encuentran en todos los eucariotas. A pesar de la sorprendente diversidad de moléculas isoprenoides, los mecanismos mediante los cuales los sintetizan las diferentes especies son similares. De hecho, la fase inicial de la síntesis de los isoprenoides (la síntesis del isopentenil pirofosfato) parece ser idéntica en todas las especies en las que se ha investigado este proceso. En la Figura 12-22 se detallan las relaciones entre las diferentes clases de isoprenoides.

Debido a su importancia en la biología humana, el colesterol ha recibido una enorme atención por los investigadores. Por esta razón, el metabolismo del colesterol se conoce mejor que el de las demás moléculas de isoprenoides.

Metabolismo del colesterol

El colesterol que se utiliza en todo el cuerpo procede de dos fuentes: la alimentación y la síntesis *de novo*. Cuando la alimentación aporta suficiente colesterol, la síntesis de esta molécula está inhibida. En las personas normales el colesterol que proporcionan las LDL inhibe la síntesis de colesterol. La biosíntesis de colesterol se estimula cuando la alimentación tiene poco colesterol. Como se ha descrito previamente, el colesterol se utiliza como componente de la membrana celular y para la síntesis de metabolitos importantes. Un mecanismo fundamental para eliminar el colesterol es la conversión en ácidos biliares.

SÍNTESIS DE COLESTEROL Aunque todos los tejidos pueden sintetizar colesterol (p. ej., glándulas suprarrenales, ovarios, testículos, piel e intestino), la mayoría de las moléculas de colesterol se sintetiza en el hígado. La síntesis de colesterol puede dividirse en tres fases:

1. formación de HMG-CoA (β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA) a partir de acetil-CoA,
2. conversión de HMG-CoA en escualeno, y
3. conversión de escualeno en colesterol.

La primera fase de la síntesis de colesterol es un proceso citoplásmico (Fig. 12-23). (Recuerde que el sustrato inicial, la acetil-CoA, se produce en las mitocondrias a partir de ácidos grasos y piruvato. Observe también la semejanza de la primera fase de la síntesis de colesterol con la síntesis de cuerpos cetónicos. Véase la Fig. 12-8.) La condensación de dos moléculas de acetil-CoA para formar β-cetobutiril-CoA (que también se denomina acetoacetil-CoA) está catalizada por la tiolasa.

$$2\,CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA \rightleftharpoons CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA + CoASH$$

Acetil-CoA **β-Cetobutiril-CoA**

FIGURA 12-21

Síntesis de la esfingomielina y de los glucoesfingolípidos.

La síntesis de esfinganina se produce en el RE. La esfingomielina y los esfingolípidos se sintetizan en el lado luminal de la membrana del complejo de Golgi.

$CH_3(CH_2)_{14}$—C(=O)—S—CoA **Palmitoil-CoA** + Serina $H_3\overset{+}{N}$—CH(COO^-)—CH_2OH

3-Cetoesfinganina sintasa

CO_2 CoASH

$CH_3(CH_2)_{14}$—C(=O)—CH($^+NH_3$)—CH_2OH **3-Cetoesfinganina**

NADPH + H^+

3-Cetoesfinganina reductasa

$NADP^+$

$CH_3(CH_2)_{14}$—CH(OH)—CH($\overset{+}{N}H_3$)—CH_2OH **Esfinganina**

Acil-CoA

Acil-CoA transferasa

CoASH

$CH_3(CH_2)_{14}$—CH(OH)—CH(NH—C(=O)—$(CH_2)_n$—CH_3)—CH_2OH **N-Acil-esfinganina**

FAD

$FADH_2$

$CH_3(CH_2)_{12}$—CH=CH—CH(OH)—CH(NH—C(=O)—$(CH_2)_n$—CH_3)—CH_2OH **Ceramida** → **Galactosilceramida**

UDP-Galactosa UDP

UDP-Glucosa UDP

Glucosilceramida

Fosfatidilcolina

Diacilglicerol

Esfingomielina

$CH_3(CH_2)_{12}$—CH=CH—CH(OH)—CH(NH—C(=O)—R)—CH_2—O—P(=O)(O^-)—O—$(CH_2)_2$—$\overset{+}{N}(CH_3)_3$

$CH_3(CH_2)_{12}$—CH=CH—CH(OH)—CH(NH—C(=O)—$(CH_2)_n$—CH_3)—CH_2—O—(azúcar: CH_2OH, HO, OH, OH, O)

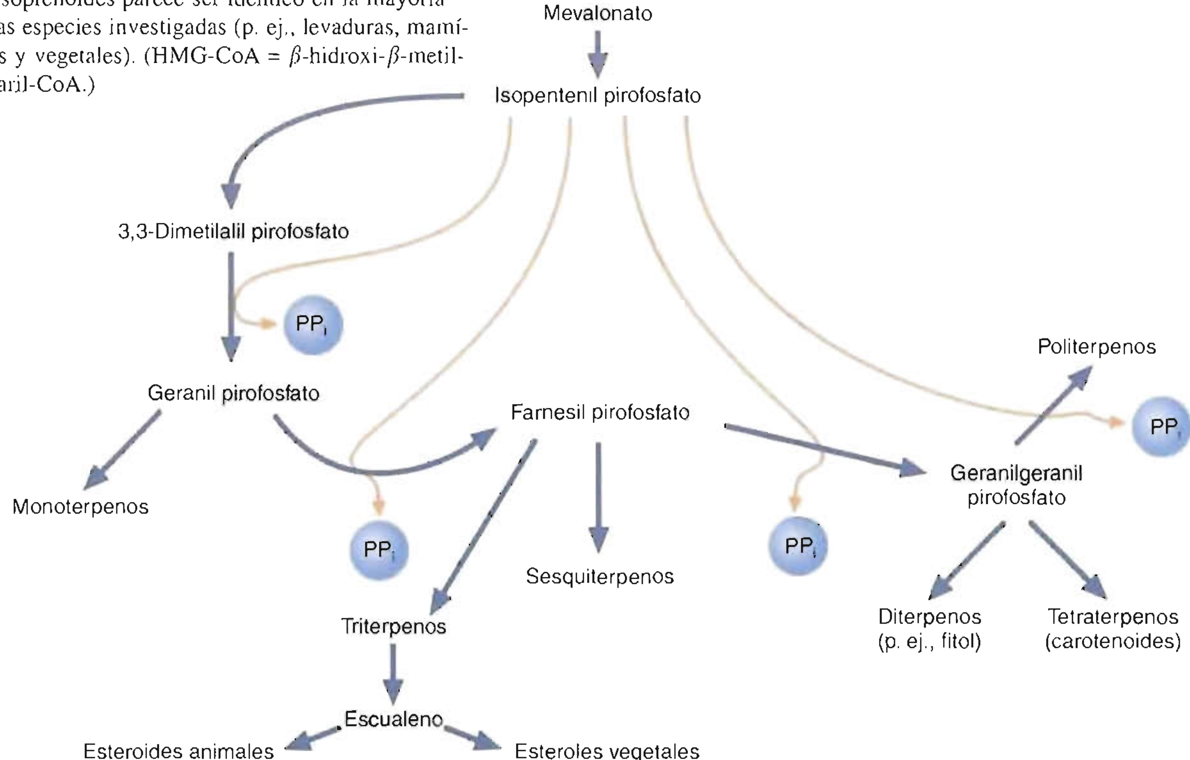


FIGURA 12-22

Biosíntesis de los isoprenoides.

Las rutas de biosíntesis de los isoprenoides producen una enorme variedad de productos en diferentes tipos celulares y en diferentes especies. A pesar de su diversidad, el comienzo de la biosíntesis de los isoprenoides parece ser idéntico en la mayoría de las especies investigadas (p. ej., levaduras, mamíferos y vegetales). (HMG-CoA = β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA.)

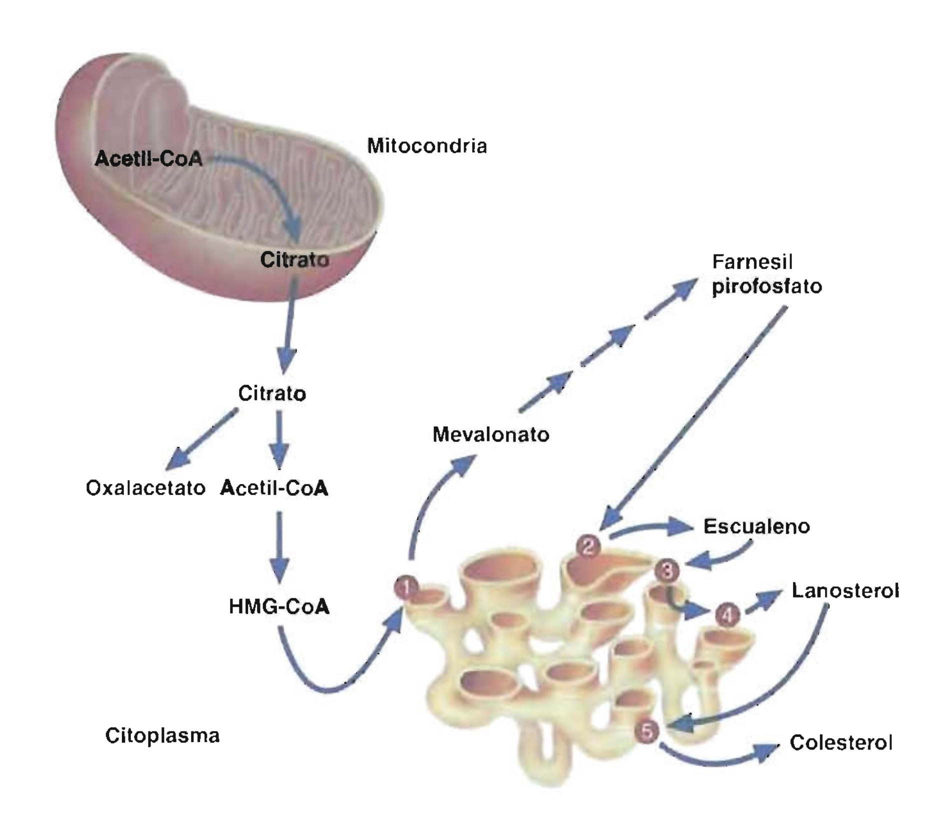


FIGURA 12-23

Síntesis de colesterol.

Varias reacciones tienen lugar en el citoplasma, pero la mayoría de las enzimas de la síntesis de colesterol se encuentran dentro de la membrana del RE. Las enzimas están indicadas con los números siguientes: 1 = HMG-CoA reductasa, 2 = Escualeno sintasa, 3= Escualeno monooxigenasa, 4 = 2,3-Oxidoescualeno lanosterol ciclasa, 5 = Enzimas que catalizan 20 reacciones distintas. Observe que el escualeno y el lanosterol son utilizados por las enzimas de la membrana del RE mientras que se encuentran unidos a proteínas transportadoras en el citoplasma.

En la reacción siguiente, la β-cetobutiril-CoA se condensa con otra molécula de acetil-CoA para formar la β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Esta reacción la cataliza la β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA sintasa (HMG-CoA sintasa):

$$CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA + CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA \longrightarrow {}^-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\underset{OH}{\overset{CH_3}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA + CoASH$$

β-Cetobutiril-CoA **Acetil-CoA** **HMG-CoA**

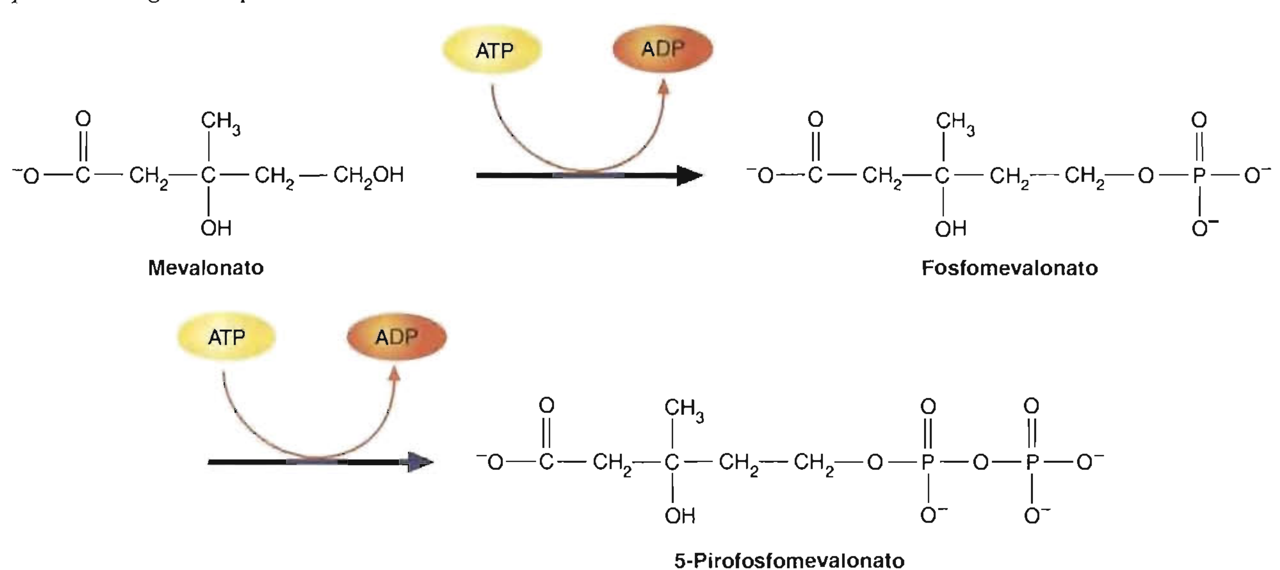
La segunda fase de la síntesis de colesterol comienza con la reducción de la HMG-CoA para formar mevalonato. El agente reductor es el NADPH.

$$ {}^-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\underset{OH}{\overset{CH_3}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA \xrightarrow{2\ NADPH + 2\ H^+ \rightarrow 2\ NADP^+} {}^-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\underset{OH}{\overset{CH_3}{C}}-CH_2-CH_2-OH + CoASH$$

HMG-CoA **Mevalonato**

La HMG-CoA reductasa que cataliza la última reacción es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de colesterol. Una acumulación de colesterol en la célula, bien sea por síntesis endógena o bien por la captación y degradación de las LDL, reduce la actividad de la HMG-CoA reductasa de dos maneras: inhibe la síntesis de HMG-CoA reductasa y aumenta la degradación de la enzima que ya existe. La actividad y la concentración celular de la HMG-CoA reductasa, que se sitúa en la cara citoplásmica del RE, están afectadas en varios grados por la concentración de productos intermediarios de la ruta (p. ej., mevalonato, farnesol, escualeno y 7-deshidrocolesterol). Sin embargo, permanece aún por resolver el mecanismo preciso por el que se regula esta enzima estratégicamente situada.

En un conjunto de reacciones citoplásmicas, el mevalonato se convierte a continuación en farnesil pirofosfato. La mevalonato quinasa cataliza la síntesis de fosfomevalonato. Una segunda reacción de fosforilación que cataliza la fosfomevalonato quinasa da lugar al 5-pirofosfomevalonato.



(La solubilidad en el citoplasma de estas moléculas hidrocarbonadas se incrementa de forma significativa por las reacciones de fosforilación.) El 5-pirofosfomevalona-

to se convierte en isopentenil pirofosfato en un proceso en el que hay una descarboxilación y una deshidratación:

$$^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\overset{CH_3}{\underset{OH}{C}}-CH_2-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O^- \xrightarrow[CO_2]{ATP \rightarrow ADP + P_i} CH_2=\overset{CH_3}{C}-CH_2-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(-O^-)-O-P(=O)(O^-)-O^-$$

5-Pirofosfomevalonato **Isopentenil pirofosfato**

El isopentenil pirofosfato a continuación se transforma en su isómero dimetilalil pirofosfato por la isopentenil pirofosfato isomerasa. (El grupo $CH_2{=}CH{-}CH_2{-}$ sobre una molécula orgánica se denomina *grupo alilo.*)

$$CH_2=\overset{CH_3}{C}-CH_2-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O^- \rightleftharpoons (CH_3)_2C=CH-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{O^-}{P}}}-O^-$$

Isopentenil pirofosfato **Dimetilalil pirofosfato**

El geranil pirofosfato se produce durante una reacción de condensación entre el isopentenil pirofosfato y el dimetilalil pirofosfato (Fig. 12-24). El pirofosfato también es un producto de esta reacción y de dos reacciones siguientes. (Recuerde que las reacciones en las que se libera pirofosfato son irreversibles debido a la posterior hidrólisis del pirofosfato.) La geranil transferasa cataliza la reacción de condensación entre el geranil pirofosfato y el isopentenil pirofosfato que da lugar al farnesil pirofosfato. El escualeno se sintetiza cuando la farnesil transferasa (una enzima microsómica) cataliza la condensación de dos moléculas de farnesil pirofosfato. (A la farnesil transferasa se la denomina también escualeno sintasa.) Esta reacción requiere NADPH como donador de electrones.

La última fase de la ruta de biosíntesis de colesterol (Fig. 12-25) comienza con la unión del escualeno a una proteína transportadora citoplásmica específica que se denomina **proteína transportadora de esteroles**. La conversión del escualeno en lanosterol tiene lugar con el intermediario unido a esta proteína. Las actividades enzimáticas que se requieren para la formación del epóxido dependiente de oxígeno (escualeno monooxigenasa) y la posterior ciclación (2,3-oxidoescualeno lanosterol ciclasa) que dan lugar a la síntesis de lanosterol se encuentran en los microsomas. La escualeno monooxigenasa requiere para su actividad NADPH y FAD. Tras su síntesis, el lanosterol se une a una segunda proteína transportadora, a la que permanece unido durante las reacciones restantes. Todas las actividades enzimáticas que catalizan las 20 reacciones restantes necesarias para convertir el lanosterol en colesterol están embebidas en las membranas microsómicas. En un conjunto de transformaciones que utilizan el NADPH y el oxígeno, el lanosterol se convierte en 7-deshidrocolesterol. Este producto posteriormente se reduce por el NADPH para formar colesterol.

Recuerde que el colesterol es el precursor de todas las hormonas esteroideas y de las sales biliares. A continuación se bosquejan brevemente estas síntesis. El metabolismo de los esteroides es muy complejo y todavía comprendido de forma incompleta. Diversas células y orgánulos figuran de forma destacada en la producción y pro-

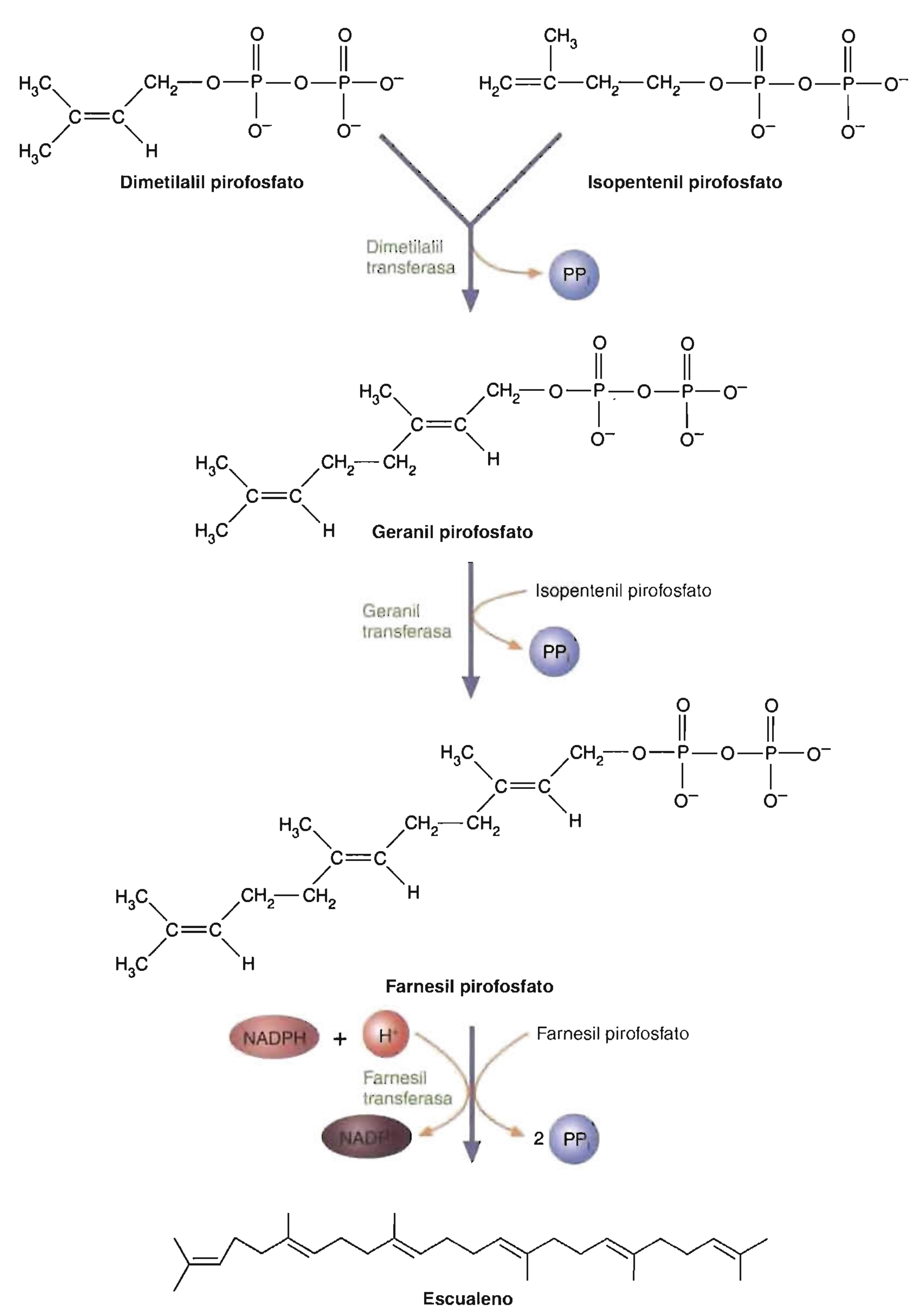


FIGURA 12-24

Síntesis de escualeno a partir de dimetilalil pirofosfato e isopentenil pirofosfato.

El precursor inmediato del escualeno es el farnesil pirofosfato que contiene tres grupos isoprenoides C_5.

FIGURA 12-25

Síntesis de colesterol a partir de escualeno.

Ésta es la ruta principal en los mamíferos. En otra ruta menor, el escualeno se convierte en desmosterol, que posteriormente se reduce para formar colesterol. No se conocen totalmente los detalles de estas reacciones y de muchas reacciones de la ruta principal. (El desmosterol se diferencia del colesterol en que tiene un doble enlace C=C entre C-24 y C-25.)

cesado de estas potentes sustancias. La reacción inicial de la síntesis de hormonas esteroideas, la conversión del colesterol en pregnenolona (Fig. 12-26), está catalizada por la desmolasa, una enzima mitocondrial. La desmolasa es un complejo enzimático formado por dos hidrolasas, una de las cuales es una enzima citocromo P_{450}. El citocromo P_{450} participa en reacciones del metabolismo de los esteroides y de los xenobióticos (véase el Recuadro de Interés Especial 10.1). Tras su síntesis, la pregnenolona se transporta al RE, donde se convierte en progesterona. La pregnenolona y la progesterona son precursores de las demás hormonas esteroideas (Fig. 12-27). Además de su función precursora, la progesterona actúa como una hormona. Su papel hormonal principal es la regulación de diversos cambios fisiológicos del útero.

Colesterol

Desmolasa
(Mitocondrias)

Isocaproaldehído

Pregnenolona

(Retículo
endoplásmico)

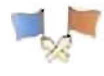
Progesterona

FIGURA 12-26

Síntesis de progesterona.

La pregnenolona se sintetiza en las mitocondrias y se transporta al RE, donde se convierte en progesterona. Este último proceso oxida el grupo hidroxilo e isomeriza un doble enlace C=C.

Durante el ciclo menstrual, la progesterona se produce en células especializadas del ovario. Durante el embarazo, la progesterona, que produce la placenta en grandes cantidades, impide las contracciones de la musculatura lisa.



Las cantidades y los tipos de esteroides que se sintetizan en un tejido específico están cuidadosamente regulados. Las células de cada tejido se programan durante el desarrollo embrionario y fetal para responder a las señales químicas induciendo la síntesis de un conjunto singular de enzimas específicas. Las señales químicas más importantes que actualmente se piensa influyen sobre el metabolismo de los esteroides son las hormonas peptídicas que segrega la hipófisis (una estructura que produce hormonas y que se encuentra en el cerebro) y diversas prostaglandinas. (Véase en el Capítulo 16 la consideración de las hormonas y la acción hormonal.) Por ejemplo, la *hormona adenocorticotrópica* (ACTH) es una hormona peptídica que segrega la hipófisis y que estimula la síntesis de esteroides suprarrenales. Una de las consecuencias de la unión de la ACTH a los receptores de las células suprarrenales es un aumento de la síntesis de 17-α-hidroxilasa y 11-β-hidroxilasa. Por el contrario, se ha observado que la prostaglandina $F_{2\alpha}$ inhibe la inducción de la síntesis de progesterona en los ovarios. La hormona luteinizante (LH), una proteína que produce la hipófisis, estimula este último proceso. (No está claro aún cuál es el efecto funcional de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ sobre la síntesis de progesterona.)

Progesterona
21-Hidroxilasa
17-α-Hidroxilasa
21-Hidroxiprogesterona
17-α-Hidroxiprogesterona
11-β-Hidroxilasa
18-Hidroxilasa
18-Hidroxiesteroide deshidrogenasa
Aldosterona
11-β-Hidroxilasa
21-Hidroxilasa (Glándulas suprarrenales)
Cortisol
17, 20-Liasa (Gónadas)
4-Androstenediona
17-β-Hidroxiesteroide deshidrogenasa
Testosterona
17-β-Estradiol

FIGURA 12-27

Síntesis de esteroides seleccionados.

La enzima 17-α-hidroxilasa se encuentra en todas las células que producen esteroides. La mayoría del resto de enzimas son específicas de cada tejido.

Los procesos enzimáticos por los que el colesterol se convierte en esteroides con actividad biológica, así como los medios por los que se inactivan los esteroides y se preparan para su eliminación, constituyen un mecanismo complejo que se denomina biotransformación (Recuadro de Interés Especial 10.1). Durante la biotransformación se utilizan también las mismas enzimas (o, en algunos casos, similares) para

solubilizar los xenobióticos hidrófobos de forma que puedan excretarse con más facilidad.

PREGUNTA 12.11

Durante un experimento se sintetiza colesterol utilizando como sustrato

$$CH_3{}^{14}C(=O)-OH$$

¿Qué átomos del colesterol que se recuperan estarán marcados?



El *cortisol* (que también se denomina *hidrocortisona*) es un potente glucocorticoide. (Los **glucocorticoides** son hormonas que estimulan el metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y las grasas. Por ejemplo, los glucocorticoides estimulan la gluconeogénesis, la lipólisis, y aumentan la captación de aminoácidos por el hígado.) El cortisol posee también una pequeña actividad mineralcorticoide. (Los **mineralcorticoides** regulan el metabolismo del Na^+ y del K^+. Por ejemplo, la aldosterona, el mineralcorticoide más importante del ser humano, induce la reabsorción de Na^+ de la orina. También estimula la secreción de K^+ y H^+ a la orina.) Para que los esteroides tengan actividad glucocorticoide o mineralcorticoide deben poseer un grupo hidroxi en C-11.

En la *enfermedad de Addison*, la secreción inadecuada de glucocorticoides y mineralcorticoides da lugar a hipoglucemia, un desequilibrio de las concentraciones corporales de Na^+ y K^+, y una tensión sanguínea baja. En el pasado, las personas que padecían la enfermedad de Addison sin diagnosticar encontraban que el consumo de cantidades importantes de regaliz proprocionaba algún alivio a sus síntomas. (El regaliz, que es un extracto de la planta *Glycyrrhiza glabra*, se utiliza como saborizante en caramelos y algunos medicamentos.) En estos pacientes, el consumo de regaliz producía retención de sodio, hipopotasemia (baja concentración sanguínea de K^+) y un aumento de la tensión sanguínea. Este efecto era más pronunciado cuando se administraba cortisol.



Recientemente, se ha descubierto que el ingrediente activo del regaliz, que es el ácido glicirrícico, inhibe la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, la enzima que convierte reversiblemente el cortisol en cortisona, su metabolito inactivo. Observe la estructura del cortisol (Fig. 12-27) y deduzca la estructura de la cortisona. Dado que el cortisol se considera un glucocorticoide, ¿por qué el consumo de ácido glicirrícico parecer afectar al metabolismo mineral? A menudo se utiliza la cortisona para tratar la enfermedad de Addison aunque fisiológicamente es inactiva. Sugiera una razón que justifique su uso.

DEGRADACIÓN DEL COLESTEROL A diferencia de otras muchas clases de biomoléculas, el colesterol y otros esteroides no pueden degradarse a moléculas más pequeñas, sino que se convierten en derivados cuya mayor solubilidad permite su eliminación. El mecanismo más importante para degradar y eliminar el colesterol es la síntesis de ácidos biliares. Ésta, que tiene lugar en el hígado, se esquematiza en la Figura 12-28. La conversión de colesterol en 7-α-hidrocolesterol, que cataliza la colesterol-7-hidroxilasa (una enzima microsómica), es la reacción limitante de la velocidad de la síntesis de ácidos biliares. En reacciones posteriores, el doble enlace de C-5 se reagrupa y reduce y se introduce otro grupo hidroxilo. Los productos de este proceso, el ácido cólico y el ácido desoxicólico, se convierten en sales biliares por enzimas microsómicas que catalizan reacciones de conjugación. (En las **reacciones de conjugación** se incrementa la solubilidad de una molécula convirtiéndola en un derivado que contiene un grupo hidrosoluble. Las amidas y los

CONCEPTOS CLAVE 12.6

El colesterol se sintetiza a partir de acetil-CoA mediante una ruta con muchos pasos que tiene lugar principalmente en el hígado. Se utilizan pequeñas cantidades de colesterol para sintetizar hormonas esteroideas con gran actividad biológica. El colesterol se degrada principalmente mediante su conversión en sales biliares, las cuales facilitan la emulsión y absorción de la grasa del alimento.

FIGURA 12-28

Síntesis del ácido biliar ácido cólico (a) y de la sal biliar glicocolato (b).

Debido a su mayor solubilidad, los ácidos biliares actúan principalmente como detergentes durante la digestión de las grasas del alimento.

ésteres son ejemplos comunes de estos derivados conjugados.) La mayoría de los ácidos biliares se conjugan con glicina o taurina (Fig. 12-29).

Las sales biliares son componentes importantes de la *bilis*, un líquido amarillo verdoso que se produce en los hepatocitos y que ayuda a digerir los lípidos. Además de las sales biliares, la bilis contiene colesterol, fosfolípidos y pigmentos biliares (bilirrubina y biliverdina). Los pigmentos biliares son productos de la degradación del hemo. Tras segregarse a los conductos biliares y almacenarse en la vesícula biliar, la bilis se utiliza en el intestino delgado para incrementar la absorción de la grasa del alimento. La bilis actúa como agente emulsionante, es decir, estimula la fragmentación de las grandes gotas de grasa en gotas más pequeñas. Las sales biliares también participan en la formación de las denominadas micelas biliares, que ayudan a absorber la grasa y las vitaminas liposolubles (A, D, E y K). La mayoría de las sales biliares se

$H_3\overset{+}{N}—CH_2—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—O^-$ $\quad$ $H_3N^+—CH_2—CH_2—SO_3^-$

Glicina **Taurina**

FIGURA 12-29

Estructura de la glicina y la taurina.

La mayoría de los ácidos biliares se conjugan en el hígado con glicina o taurina.

reabsorben en el íleo distal (cerca del final del intestino delgado). Penetran en la sangre y se transportan de regreso al hígado, donde se vuelven a segregar a los conductos biliares con otros componentes de la bilis. El significado biológico de las reacciones de conjugación de los ácidos biliares parece ser que el proceso de conjugación impide la absorción prematura de los ácidos biliares en el tracto biliar (el sistema de conductos y la vesícula) y el intestino delgado. La reabsorción de las sales biliares en el íleo distal del intestino delgado (necesaria para el reciclado eficaz) aparentemente está desencadenada por la señal de la glicina o la taurina. (Se ha calculado que las moléculas de sales biliares se reciclan unas 18 veces antes de que finalmente se eliminen.)

PREGUNTA 12.13

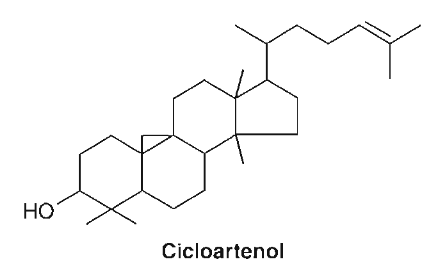


La formación de cálculos (cristales que normalmente están formados por colesterol y sales inorgánicas) dentro de la vesícula biliar o de los conductos biliares afecta a millones de personas. Los factores que predisponen a esta enfermedad extremadamente dolorosa son la obesidad y la infección de la vesícula biliar (*colecistitis*). Dado que el colesterol es virtualmente insoluble en agua, se solubiliza en la bilis mediante su incorporación en micelas formadas por sales biliares y fosfolípidos. Los cálculos tienden a formarse cuando se segrega el colesterol a la bilis en cantidades excesivas. Sugiera una razón por la que las personas obesas son propensas a padecer de formación de cálculos. (*Pista*: La actividad HMG-CoA reductasa es más elevada en las personas obesas.)

Metabolismo de los esteroles en los vegetales



Se conoce relativamente poco sobre los esteroles de los vegetales. (La mayor parte de los esfuerzos investigadores en el metabolismo de esteroides se han empleado en la investigación de las enfermedades humanas relacionadas con los esteroides). Sin embargo, parece que la fase inicial de la síntesis de los esteroles de los vegetales es muy parecida a la de la síntesis del colesterol, con la excepción siguiente. En los vegetales y las algas la ciclación del escualeno-2,3-epóxido conduce a la síntesis de *cicloartenol* (Fig. 12-30) en lugar de lanosterol. La mayoría de las reacciones siguientes en la ruta de los esteroles vegetales son reacciones de metilación con participación del SAM. En las células vegetales parecen existir dos rutas independientes de biosíntesis de isoprenoides: la ruta RE/citoplasma, y una ruta independiente en los cloroplastos. No están aún claras las funciones de estas rutas en el metabolismo de los isoprenoides en los vegetales.



Cicloartenol

FIGURA 12-30

Estructura del cicloartenol.

El cicloartenol es un intermediario que se forma durante la síntesis de los esteroles vegetales.

RESUMEN

1. La acetil-CoA desempeña un papel central en la mayoría de los procesos metabólicos de los lípidos. Por ejemplo, se utiliza acetil-CoA en la síntesis de los ácidos grasos y cuando éstos se degradan para generar energía, el producto es acetil-CoA.

2. Las moléculas de grasas recién digeridas se utilizan para generar energía o se almacenan en los adipocitos, dependiendo de los requerimientos energéticos corporales. Cuando las reservas energéticas corporales son bajas, las reservas de grasa se movilizan en un proceso que se denomina lipólisis. En ésta, se hidrolizan los triacilgliceroles para dar ácidos grasos y glicerol. El glicerol se transporta hasta el hígado, donde puede utilizarse para la síntesis de lípidos o de glucosa. La mayoría de los ácidos grasos se degradan para formar acetil-CoA dentro de las mitocondrias en un proceso que se denomina β-oxidación. La β-oxidación peroxisómica parece acortar los ácidos grasos de cadena muy larga. Otras reacciones degradan los ácidos grasos de cadena impar y los ácidos grasos insaturados. Cuando el producto de la degradación de los ácidos grasos (acetil-CoA) se encuentra presente en exceso, se forman los cuerpos cetónicos.

3. El primer paso en la síntesis de los eicosanoides es la liberación del ácido araquidónico del C-2 del glicerol en las moléculas de fosfoglicéridos de las membranas. La ciclooxigenasa convierte el ácido araquidónico en PGG_2, que es un precursor de las prostaglandinas y de los tromboxanos. Las lipooxigenasas convierten el ácido araquidónico en los precursores de los leucotrienos.

4. La síntesis de los ácidos grasos comienza con la carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil-CoA. Las reacciones restantes de la síntesis de los ácidos grasos tienen lugar en el complejo multienzimático ácido graso sintasa. Existen varias enzimas para alargar y desaturar los ácidos grasos del alimento y los recién sintetizados.

5. Tras sintetizarse los fosfolípidos en la interfase del RE y el citoplasma, suelen «remodelarse», es decir, se ajusta su composición de ácidos grasos. El recambio (es decir, la degradación y sustitución) de los fosfolípidos, mediante la fosfolipasa, es rápido.

6. La síntesis del componente ceramida de los esfingolípidos comienza con la condensación de la palmitoil-CoA con la serina para formar 3-cetoesfinganina. En un proceso en dos pasos con participación de una acil-CoA y de $FADH_2$, la esfinganina (que se forma cuando se reduce la 3-cetoesfinganina por el NADPH) se convierte en ceramida. Los esfingolípidos se degradan en los lisosomas.

7. En el complicado proceso de la síntesis de membranas y su transporte a los lugares de destino participan proteínas de cambio de localización de los fosfolípidos, proteínas de intercambio de fosfolípidos y vesículas de transición.

8. La síntesis de colesterol puede dividirse en tres fases: formación de HMG-CoA a partir de acetil-CA, conversión de la HMG-CoA en escualeno y conversión de escualeno en colesterol. El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas y de las sales biliares. Estas últimas se utilizan para emulsionar la grasa del alimento. Son el medio principal por el que el cuerpo se libera del colesterol.

LECTURAS RECOMENDADAS

Drayr, J.-P., and Vamecq, J., The Gluconeogenicity of Fatty Acids in Mammals, *Trends Biochem. Sci.*, 14:478-479, 1989.

Goldstein, J. L. and Brown, M. S., Regulation of the Mevalonate Pathway, *Nature*, 343:425-430, 1990.

Gurr, M. I., Frayn, K. N., and Harwood, J. L., *Lipid Biochemistry: An Introduction*, 5th ed., Blackwell Scientific Inc., Oxford, 2001.

Hampton, R., Dimster-Denk, D., and Rine, J., The Biology of HMG-CoA Reductase: The Pros of Contra-regulation, *Trends Biochem. Sci.*, 21:140-145, 1996.

Hashimoto, T., Peroxisomal beta-Oxidation Enzymes. *Cell Biochem. Biophys.*, 32:63-72, 2000.

Johnson, M., Carey, F., and McMillan, R. M., Alternative Pathways of Arachidonate Metabolism: Prostaglandins, Thromboxanes and Leukotrienes, *Essays Biochem.*, 19:40-141, 1983.

Vance, J. E., Eukaryotic Lipid-Biosynthetic Enzymes: The Same but Not the Same, *Trends Biochem. Sci.*, 23(11):423-428, 1998.

Weissman, G., Aspirin, *Sci. Amer.*, 264:84-90, 1991.

PALABRAS CLAVE

β-oxidación, *378*
3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato, *401*
cetogénesis, *383*
cetosis, *383*
ciclo de Calvin, *396*
cuerpo cetónico, *383*
enfermedad autoinmunitaria, *392*
epóxidos, *389*
glucocorticoide, *411*
lipogénesis, *375*
lipólisis, *377*
mineralcorticoide, *411*
proteína de unión de ácidos grasos, *378*
proteína transportadora de esteroles, *406*
proteína transportadora del acilo, *387*
reacción de conjugación, *411*
recambio, *400*
rotura tiolítica, *381*
sales biliares, *374*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina los términos siguientes:
   a. *de novo*
   b. cuerpos grasos
   c. β-oxidación
   d. recambio
   e. rotura tiolítica
   f. autoanticuerpos
   g. cuerpos cetónicos
   h. biotransformación
   i. reacción de conjugación
2. ¿Cuál es la función de cada una de las sustancias siguientes?
   a. carnitina

b. flipasa
c. trombina
d. tiolasa
e. desmolasa
f. proteína de intercambio de fosfolípidos
g. proteína de transporte de esteroles
h. ACTH
i. glucocorticoide

3. ¿Cuáles son las diferencias entre la β-oxidación en las mitocondrias y en los peroxisomas? ¿Qué semejanzas existen entre estos procesos?
4. Relacione tres diferencias entre la síntesis de los ácidos grasos y la β-oxidación.
5. ¿En qué se diferencia la síntesis de ácidos grasos en los vegetales y en los animales?
6. Explique cómo modifican las hormonas el metabolismo de los ácidos grasos a corto y a largo plazo. Dé ejemplos.
7. ¿Cuál es la diferencia entre un esteroide y un esterol?
8. Describa cómo se oxida el ácido graso siguiente:

$$CH_3CH_2CH_2CH(CH_3){-}CH_2{-}C(=O){-}OH$$

Indique en qué puntos se llevan a cabo la α-oxidación y la β-oxidación.

9. La insulina se libera tras la ingestión de hidratos de carbono. Describa dos formas de actuación de la insulina que influyan sobre el metabolismo de los ácidos grasos.
10. La β-oxidación de los ácidos grasos monoinsaturados naturales requiere una enzima adicional. ¿Cuál es esta enzima y cómo realiza su trabajo?
11. Identifique las regiones hidrófoba e hidrófila de la siguiente molécula. ¿Cómo piensa que se orienta en una membrana?

$$CH_3{-}(CH_2)_{15}CH_2{-}C(=O){-}O{-}CH(CH_2{-}O{-}C(=O){-}CH_2(CH_2)_{15}{-}CH_3)(CH_2{-}O{-}P(=O)(O^-){-}O{-}CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3)$$

12. La enfermedad de Gaucher es una deficiencia hereditaria de la β-glucocerebrosidasa. Los glucocerebrósidos se depositan en los macrófagos, que mueren, liberando su contenido en los tejidos. Algunas personas afectadas pueden tener trastornos neurológicos desde muy jóvenes, mientras que otras pueden no mostrar efectos de la enfermedad hasta mucho más tarde en su vida. La enfermedad puede detectarse analizando en los leucocitos la capacidad de hidrolizar el enlace β-glucosídico en sustratos artificiales. Observe el glucocerebrósido siguiente y señale el enlace que rompe la glucocerebrosidasa.

$$CH_3{-}(CH_2)_{12}{-}CH{=}CH{-}CH(OH){-}CH(NH{-}C(=O){-}R){-}CH_2{-}O{-}\text{[glucosa: } CH_2OH, OH, OH, OH]$$

13. Determine el número de moles de ATP que pueden generar los ácidos grasos de 1 mol de triestearina. (La triestearina es un triacilglicerol formado por glicerol esterificado con tres moléculas de ácido esteárico.) ¿Cuál es el destino del glicerol?
14. Bosqueje la biosíntesis de las sales biliares. ¿Cuáles son las funciones de estas sustancias?
15. Cómo se relacionan entre ellas las moléculas lipídicas como las moléculas de los esteroides animales y el β-caroteno? ¿Qué reacciones de biosíntesis tienen en común estas moléculas específicas?

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Una clase de medicamentos denominada estatinas inhiben la enzima HMG-CoA reductasa. ¿Cuál es el efecto primario de estos fármacos en los pacientes?
2. ¿Cuáles son las potenciales consecuencias de una regulación ineficaz de los procesos opuestos β-oxidación y síntesis de ácidos grasos?
3. Describa los posibles efectos de las bajas concentraciones de carnitina sobre el metabolismo de una persona afectada.
4. Las fosfolipasas exhiben una actividad potenciada por un sustrato por encima de una concentración crítica de micelas. (La concentración crítica de micelas, o ccm, es la concentración de un lípido por encima de la cual comienzan a formarse las micelas.)
   a. ¿Qué tipo de interacciones no covalentes son posibles en esta fase entre el lípido y la enzima?
   b. ¿Qué sugieren estas interacciones sobre la estructura de las fosfolipasas?
5. Cuando la producción de la acetil-CoA supera la capacidad del cuerpo para oxidarla, se acumulan ácido acetoacético, ácido β-hidroxibutírico y acetona. Cuando se generan en grandes cantidades, estas sustancias pueden superar la capacidad amortiguadora de la sangre. Al caer el pH, se afecta la capacidad de los eritrocitos para transportar oxígeno. Consecuentemente, el cerebro puede quedar privado de oxígeno y se produce un coma mortal. Explique cómo una dieta severa puede dar lugar a esta situación.
6. Las enfermedades por deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa son un grupo de trastornos hereditarios que dañan la β-oxidación de los ácidos grasos. Los síntomas de la enfermedad van desde

náuseas y vómitos a comas frecuentes. Los síntomas pueden aliviarse comiendo regularmente y evitando los períodos de ayuno (12 horas o más). ¿Por qué este procedimiento tan sencillo alivia los síntomas?

7. En la cara luminal del RE existe una concentración inusualmente elevada de fosfatidilcolina. ¿Qué característica estructural de la fosfatidilcolina es la responsable de esto? Explique cómo esta característica estructural produce este efecto.

8. Durante períodos de estrés o ayuno, descienden las concentraciones sanguíneas de glucosa. Como respuesta, se liberan ácidos grasos de los adipocitos. Explique cómo la caída de la glucosa sanguínea dispara la liberación de ácidos grasos.

9. El ácido butírico, un ácido graso sencillo de cuatro átomos de carbono, se oxida mediante β-oxidación. Calcule el número de moléculas de $FADH_2$ y NADH que se producen en esta oxidación. ¿Cuántas moléculas de acetil-CoA se producen también?

CAPÍTULO TRECE

Fotosíntesis

SUMARIO



Utilización del oxígeno por una planta acuática. La luz es el regulador principal de la fotosíntesis. La luz afecta a las actividades de enzimas reguladoras de los procesos fotosintéticos mediante mecanismos indirectos, entre los que se encuentran los cambios de pH, de concentración de Mg^{2+}, del sistema ferredoxina-tiorredoxina y del fitocromo.

Sin lugar a dudas, la fotosíntesis es el proceso bioquímico más importante de la Tierra. Con unos pocos excepciones menores, la fotosíntesis es el único mecanismo mediante el cual los seres vivos disponen de una fuente externa de energía. Igual que en otros procesos que producen energía, la fotosíntesis implica reacciones de oxidación-reducción. El agua es la fuente de los electrones y los protones que reducen al CO_2 *para formar compuestos orgánicos. El Capítulo 13 se dedica a los principios de los procesos fotosintéticos. Se insiste en la relación entre las reacciones fotosintéticas y la estructura de los cloroplastos y las propiedades destacadas de la luz.*

Al hacerse abundantes los seres vivos sobre la primitiva Tierra, el consumo de los nutrientes orgánicos que generaban los procesos geoquímicos se hicieron mayores que la producción. El abundante CO_2 de la primera atmósfera terrestre era la fuente natural de carbono de la síntesis orgánica. (La mayoría de este CO_2 era de origen volcánico o se generaba durante la degradación anaerobia de los nutrientes orgánicos por los seres vivos.) Sin embargo, el CO_2 era una molécula oxidada con poca energía. Por esta razón, los procesos por medio de los cuales se incorpora el CO_2 en las moléculas orgánicas requieren energía y poder reductor. (La formación de enlaces carbono-carbono requiere energía libre que actualmente proporciona la hidrólisis del ATP. Se requiere poder reductor debido a que un donador electrónico fuerte debe proporcionar los electrones de energía elevada que se necesitan para convertir el CO_2 en una unidad CH_2O, una vez incorporado el CO_2 a una molécula orgánica.)

La formación de los mecanismos fotosintéticos (que se denominan **fotosistemas**) proporcionó la energía y el poder reductor para la síntesis orgánica. Los organismos que los poseyeron tuvieron una clara ventaja para sobrevivir, debido a que no dependían más de un aporte precario de nutrientes orgánicos ya formados. Estos organismos primitivos se supone que debían ser semejantes a las modernas bacterias sulfúreas verdes, que poseen un fotosistema que utiliza la energía luminosa para impulsar un proceso de transporte electrónico relativamente sencillo. Al absorber la energía luminosa una molécula de pigmento del fotosistema, se proporciona energía a un electrón y luego se cede al primero de los diversos aceptores electrónicos. Finalmente, se ceden al NAD^+ dos electrones excitados por la luz, formando así el agente reductor NADH. (Las modernas bacterias sulfúreas verdes pueden utilizar también el NADPH como agente reductor en la fotosíntesis. En especies más avanzadas, se utiliza exclusivamente como agente reductor el NADPH.) El componente de la membrana que interviene en la conversión de la energía luminosa en energía química es un complejo proteína-pigmento que se denomina **centro de reacción**. Los electrones que salen del centro de reacción se sustituyen cuando los componentes oxidados del centro de reacción retiran los electrones del H_2S, generando así S. Al fluir los electrones por el fotosistema, se bombean protones a través de la membrana, creando así un gradiente electroquímico. El ATP se sintetiza al regresar los protones a la célula a través de la ATP sintasa. Este fotosistema, por lo tanto, proporciona a la célula bacteriana el NADH y el ATP que incorporan el CO_2 a las moléculas orgánicas. Sin embargo, normalmente no se produce H_2S en grandes cantidades, y la mayoría de las moléculas de H_2S se producen en zonas relativamente aisladas. (Recuerde, por ejemplo, las corrientes hidrotérmicas que se describen en el Recuadro de Interés Especial 4.1.)

El siguiente paso fundamental en la evolución de la vida fue un fotosistema que eliminaba y utilizaba los electrones del H_2O. Debido a que el agua es abundante, los organismos fotosintéticos penetraron y ocuparon nuevas áreas extensas sobre el planeta. La fotosíntesis que utiliza el agua también tuvo un impacto profundo sobre otros organismos. Al proliferar los organismos fotosintéticos, proporcionaron un aporte nuevo y más rico de moléculas orgánicas para otras formas de vida. Sin embargo, su contribución más significativa fue la acumulación de oxígeno gaseoso en la atmósfera. Como se ha descrito previamente, algunos organismos (es decir, aquellos que sobrevivieron a este período) se adaptaron a estas condiciones cambiantes estableciendo mecanismos que los protegieran contra los efectos tóxicos del oxígeno. Finalmente, los organismos comenzaron a utilizar el oxígeno para generar energía.

Los electrones que se eliminan del H_2O tienen un potencial redox más positivo que los del H_2S. Se requiere, por lo tanto, un aporte de energía mayor para impulsar la transferencia de electrones desde el H_2O a los aceptores electrónicos con potenciales de reducción más negativos (véase la pág. 277). Por consiguiente, para convertir los electrones del agua de baja energía en los electrones de energía elevada que se necesitan para la síntesis de ATP y NADPH se requieren mecanismos más complejos y sofisticados. En el Capítulo 13 se describen los principios de este proceso, es decir, la fotosíntesis en las plantas y las algas. La exposición comienza con una visión detallada de la estructura del cloroplasto. Tras una breve revisión de las propiedades más destacadas de la luz, se describen las reacciones que constituyen la

fotosíntesis moderna, entre las que se encuentran las reacciones luminosas y las reacciones independientes de la luz. Durante las reacciones luminosas, se proporciona energía a los electrones que luego se emplean en la síntesis de ATP y de NADPH. Estas moléculas se emplean posteriormente en las reacciones independientes de la luz (también llamadas reacciones oscuras) para impulsar la síntesis de hidratos de carbono. Se exponen también diversas variantes de la fotosíntesis, que se denominan metabolismo del C4 y metabolismo del ácido crasuláceo. El Capítulo 13 finaliza con una consideración de los diversos mecanismos que controlan la fotosíntesis en los vegetales.

CONCEPTOS CLAVE 13.1

La incorporación del CO_2 en moléculas orgánicas requiere energía y poder reductor. En la fotosíntesis, ambos requerimientos los proporciona un proceso complejo que impulsa la energía luminosa.

13.1 CLOROFILA Y CLOROPLASTOS

La característica esencial de la fotosíntesis es la absorción de energía luminosa mediante moléculas de pigmento especializadas (Fig. 13-1). Las **clorofilas** son moléculas verdes de pigmento que se asemejan al hemo. La *clorofila a* desempeña un papel principal en la fotosíntesis de los eucariotas, debido a que la absorción de energía luminosa impulsa directamente los acontecimientos fotoquímicos. La *clorofila b* actúa como un pigmento recolector de luz absorbiendo energía luminosa y pasándola a la clorofila a. Los **carotenoides** son moléculas isoprenoides de color naranja que actúan o como pigmentos recolectores de luz (p. ej., la luteína, una xantofila, véase la pág. 345) o como protectores contra las especies de oxígeno reactivas (ROS) (p. ej., el β-caroteno).

En las plantas y las algas, la fotosíntesis tiene lugar en orgánulos especializados que se denominan cloroplastos (Capítulo 2, pág. 52). Éstos se parecen a las mitocondrias en varios aspectos. En primer lugar, ambos orgánulos tienen una membrana externa y una membrana interna con características diferentes de permeabilidad (Fig. 13-2). La membrana externa de cada orgánulo es muy permeable, mientras que la membrana interna posee moléculas transportadoras especializadas que regulan el tráfico molecular. En segundo lugar, la membrana interna de los cloroplastos encierra un espacio interior, que se denomina **estroma** que se parece a la matriz mitocondrial. El estroma posee varias enzimas (p. ej., las que catalizan las reacciones independientes de la luz y la síntesis de almidón), DNA y ribosomas. Existen también diferencias notables entre los orgánulos. Por ejemplo, los cloroplastos son sustancialmente más grandes que las mitocondrias. Aunque sus formas y tamaños varían, muchas mitocondrias vegetales son estructuras con forma de bastón, con una longitud aproximada de 1500 nm y una anchura de 500 nm. Muchos cloroplastos tienen forma esferoidal con longitudes entre 4000 y 6000 nm y anchuras aproximadas de 2000 nm. Se desconocen las razones de estos intervalos de tamaño. Además, los cloroplastos poseen una tercera membrana diferente que se denomina **membrana tilacoide**, que forma un conjunto intrincado de vesículas aplanadas. Como se ha descrito antes, la membrana tilacoide está plegada en un conjunto de estructuras vesiculares semejantes a discos que se llaman **grana**. Cada *granum* consiste en un apilamiento de varias vesículas aplanadas. El compartimiento interno que crea la formación de grana se denomina **luz** (o *espacio*) **del tilacoide**. La membrana tilacoide que interconecta la grana se denomina **lamela del estroma**. Las capas adyacentes de la membrana que se ajustan muy cerca dentro de cada granum se dice que están comprimidas. Las lamelas del estroma están sin comprimir.

Los pigmentos y las proteínas responsables de las reacciones de la fotosíntesis dependientes de la luz se encuentran dentro de la membrana tilacoide (Fig. 13-3). La mayoría de estas moléculas están organizadas en las unidades de funcionamiento de la fotosíntesis.

1. Fotosistema I. El fotosistema I (PSI), que proporciona energía y transfiere los electrones que finalmente se ceden al $NADP^+$, es un gran complejo proteína-pigmeno que atraviesa la membrana formado por varios polipéptidos. De éstos, los mayores son dos subunidades casi idénticas de 83 kD que se denominan A y B. Aunque posee unas 200 moléculas de clorofila a, la función esencial del fotosistema I (la donación de electrones energetizados a un conjunto de transportadores electrónicos dentro de la membrana tilacoide) se realiza por medio de dos moléculas especia-

Clorofila a

Luteína

Clorofila b

β-caroteno

Feofitina a

FIGURA 13-1

Moléculas de pigmento que se utilizan en la fotosíntesis.

Las clorofilas a y b se encuentran en casi todos los organismos fotosintetizadores. Poseen una estructura cíclica compleja (que se denomina porfirina) con un átomo de magnesio en su centro. La clorofila a posee un grupo metilo unido al anillo II de la porfirina, mientras que la clorofila b tiene un grupo aldehído unido al mismo lugar. La feofitina a tiene una estructura semejante a la de la clorofila a. El átomo de magnesio está sustituido por 2 protones. Las clorofilas a y b y la feofitina a poseen una cadena de fitol esterificando a la porfirina. La cadena de fitol se extiende y ancla la molécula a la membrana. La luteína y el β-caroteno son los carotenoides más abundantes de las membranas tilacoides.

les de clorofila a que se encuentran dentro del centro de reacción. Estas moléculas, que reciben el nombre de par especial, se encuentran en el complejo central del PSI, el dímero AB. Debido a que absorben luz de 700 nm, el par especial del fotosistema I recibe el nombre de P700. Además del par especial, el dímero AB contiene un conjunto de transportadores de un electrón: A_0, A_1 y F_x. A_0 es una molécula específica

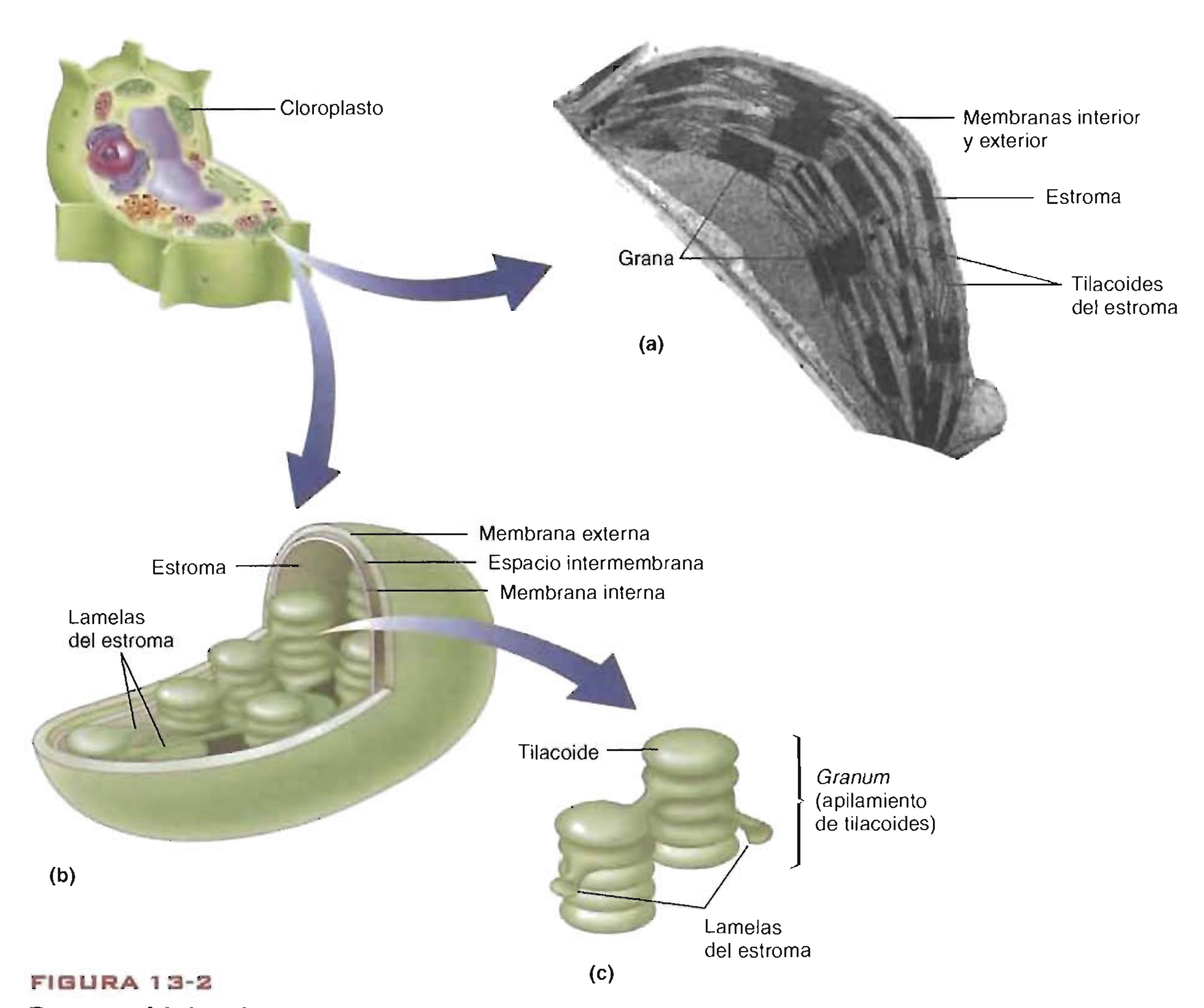


FIGURA 13-2

Estructura del cloroplasto.

Los cloroplastos tienen membranas interna y externa. Una tercera membrana se forma dentro del estroma acuoso con abundantes enzimas en sacos aplanados denominados tilacoides. Se llama *granum* a un apilamiento de tilacoides, y estroma de las lamelas a la membrana tilacoide sin apilar que los conecta. (a) Micrografía electrónica de un cloroplasto. (b) Proyección esquemática de un cloroplasto. (c) Corte de un *granum.*

de clorofila a que acepta un electrón energetizado desde el P700 y lo transfiere a A_1. A_1, que se ha identificado como la filoquinona (vitamina K_1), es una molécula de estructura semejante a la ubiquinona (Fig. 10-3) que a veces se abrevia como Q. A continuación se transfiere el electrón desde A_1 a F_x, un centro 4Fe-4S. Posteriormente, el electrón se cede a F_A y F_B, dos centros 4Fe-4S en una proteína adyacente de 9 kD. Actúan como pigmentos antena otras moléculas de clorofila a diferentes del par especial, así como cantidades pequeñas de clorofila b y carotenoides que se encuentran en el sistema I. Los **pigmentos antena** absorben energía luminosa y la transfieren al centro de reacción. Este fenómeno se describe con más detalle en la Sección 13.2. La mayor parte de los complejos PSI se encuentran en la membrana tilacoide sin comprimir, es decir, la membrana que está expuesta directamente al estroma.

2. Fotosistema II. La función del fotosistema II es oxidar las moléculas de agua y ceder los electrones energetizados a los transportadores electrónicos que finalmente reducen al fotosistema I. El fotosistema II es un gran complejo proteína-pigmento que atraviesa la membrana y que se cree que posee al menos 23 componentes. El más destacado de éstos es el centro de reacción, un complejo proteína-pigmento formado por dos subunidades polipeptídicas conocidas como D_1 (33 kD) y D_2 (31 kD) (el dímero D_1/D_2), el citocromo b_{559} y un par especial de moléculas de clorofila a (que

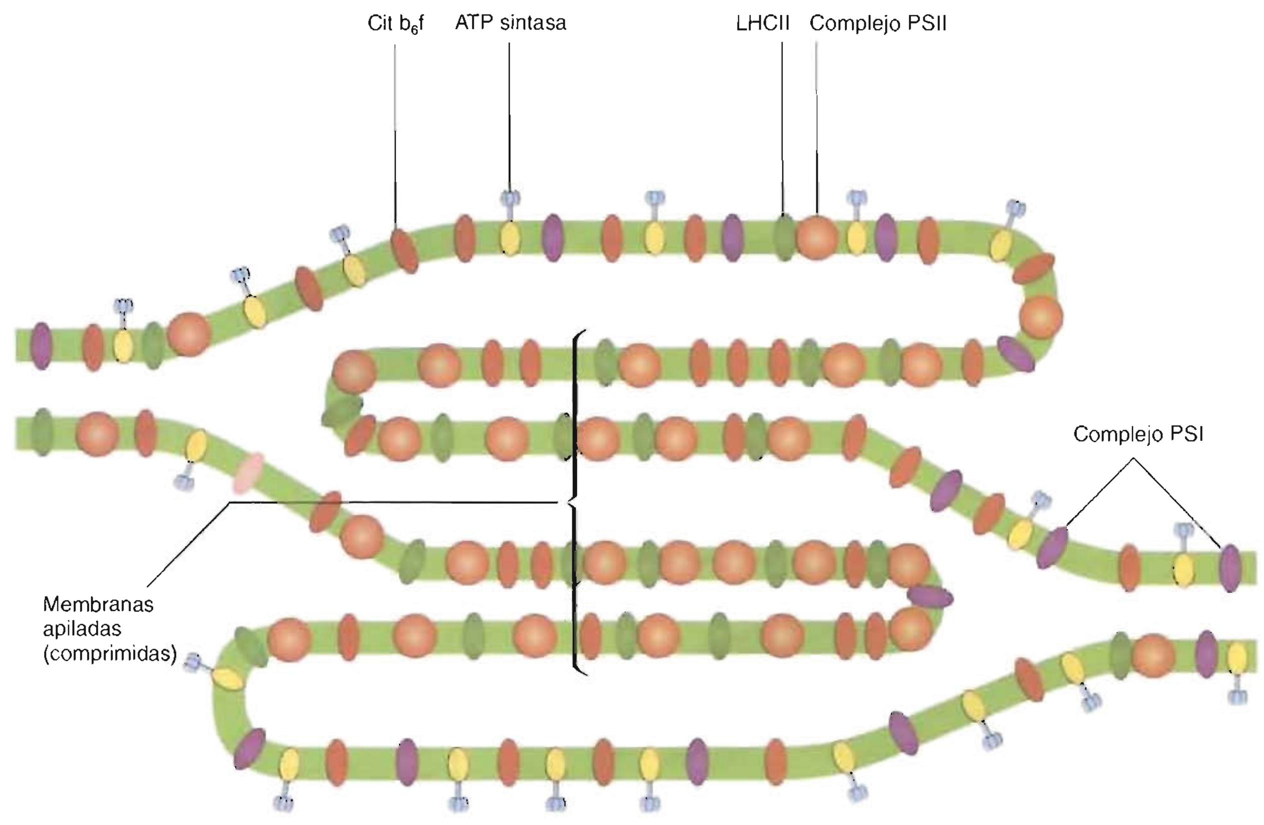


FIGURA 13-3

Unidades de trabajo de la fotosíntesis.

Los PSI son más abundantes en las lamelas del estroma sin apilar. Por el contrario, los PSII se encuentran principalmente en las regiones apiladas de la membrana tilacoide. El citocromo b_6f se encuentra en ambas áreas de la membrana tilacoide. La ATP sintasa sólo se encuentra en la membrana tilacoide que está en contacto directo con el estroma.

se denominan P680) que absorbe luz de 680 nm. El componente del PSII que forma el oxígeno está constituido por una proteína que estabiliza el manganeso (MSP), un complejo de la membrana que contiene una agrupación de manganeso y un residuo de tirosina (tyr^{161}), que se denomina Y_Z, situado en D_1. Unidos también al dímero D_1/D_2 se encuentran varios aceptores electrónicos. La feofitina es un pigmento semejante a la clorofila que acepta un electrón del P680. Este electrón se cede posteriormente a dos formas de plastoquinona (PQ), una molécula semejante a la ubiquinona. Q_A es una plastoquinona que está unida permanentemente a D_2, mientras que Q_B está unida de forma reversible a D_1. También se encuentran asociadas con el centro de reacción varios centenares de moléculas de pigmento antena. Una fracción de estas moléculas recolectoras de luz está unida a proteínas de 43 kD y 47 kD que son componentes de la estructura central del PSII. Sin embargo, la mayoría de las moléculas accesorias de pigmento y varias proteínas pertenecen a una unidad separable que se denomina *complejo II recolector de luz (LHCII)*. El LHCII está formado por una proteína transmembrana que une numerosas moléculas de clorofila a, clorofila b y carotenoides. Las unidades LHCII son un componente importante de la membrana tilacoide. Poseen aproximadamente la mitad de contenido de clorofila que los cloroplastos y un porcentaje sustancial de proteínas relacionadas con la fotosíntesis. El PSI (P700) y el PSII (P680) tienen propiedades de absorción que se solapan, y si físicamente están muy cerca, la mayoría de la energía luminosa será transferida con preferencia al PSI, que posee un requerimiento de absorción de energía menor (mayor longitud de onda). Se mantiene una absorción equilibrada mediante una fosforilación de LHCII dependiente de una plastoquinona reducida (PQH_2). Cuando la absorción del PSII supera a la del PSI, se acumula la PQH_2 y se fosforila el LHCII. Un cambio

conformacional del LHCII le libera de su asociación con el PSII y del confinamiento de la lamela comprimida. El movimiento del LHCII hacia regiones de la membrana que contienen PSI lleva a un aumento de la oxidación del PQH_2 o su asociación rota con el PSII reduce la producción de PQH_2. Con independencia del hecho que predomine, el resultado final es que se restablece el equilibrio debido a que cuando las concentraciones de PQH_2 caen el LCHII se desfosforila y bloquea su asociación con el PSII y la lamela comprimida. Se requiere la separación física del PSI y del PSII para que esta función de equilibrio de la excitación funcione eficazmente y es absolutamente necesario debido a que la intensidad y composición energética de la luz varía significativamente a lo largo del día y de condiciones soleadas a nubladas. La transferencia de electrones desde el PSII al PSI no está comprometida por esta separación física debido a que la transferencia se produce mediante transportadores electrónicos móviles. La mayoría de las unidades PSII se encuentran en la membrana tilacoide dentro de la grana, esto es, en la membrana comprimida, no expuesta al estroma.

3. Complejo citocromo b_6f. El complejo citocromo b_6f, que se encuentra por la membrana tilacoide, tiene una estructura y función semejantes a las del complejo citocromo bc_1 en la membrana mitocondrial interna. (Recuerde que el complejo citocromo bc_1 participa en la transferencia de electrones desde la UQ al citocromo c en la CTE mitocondrial y en el bombeo de protones a través de la membrana interna.) El complejo citocromo b_6f desempeña una función crucial en la transferencia de electrones desde el PSII al PSI. Un lugar hierro-azufre del complejo acepta electrones desde el transportador de electrones soluble en la membrana plastoquinona y los cede a una proteína hidrosoluble que contiene cobre, y que se denomina plastocianina. El mecanismo que transporta los electrones desde la PQH_2 a través del complejo citocromo b_6f parece ser semejante al ciclo Q de las mitocondrias (Fig. 10-7).

4. ATP sintasa. La ATP sintasa de los cloroplastos (Fig. 13-4), que también se denomina *CF_0CF_1ATP sintasa*, es estructuralmente semejante a la ATP sintasa mitocondrial. El componente CF_0 es un complejo proteico que atraviesa la membrana y que contiene un canal que conduce protones. La pieza de cabeza CF_1, que se proyec-

CONCEPTOS CLAVE 13.2

En los cloroplastos, una doble membrana encierra un espacio interior que se denomina estroma. Éste contiene las enzimas que catalizan las reacciones de la fotosíntesis independientes de la luz. La tercera membrana se forma dentro de sacos aplanados que se denominan tilacoides. La membrana tilacoide contiene los pigmentos y proteínas de las reacciones dependientes de la luz.

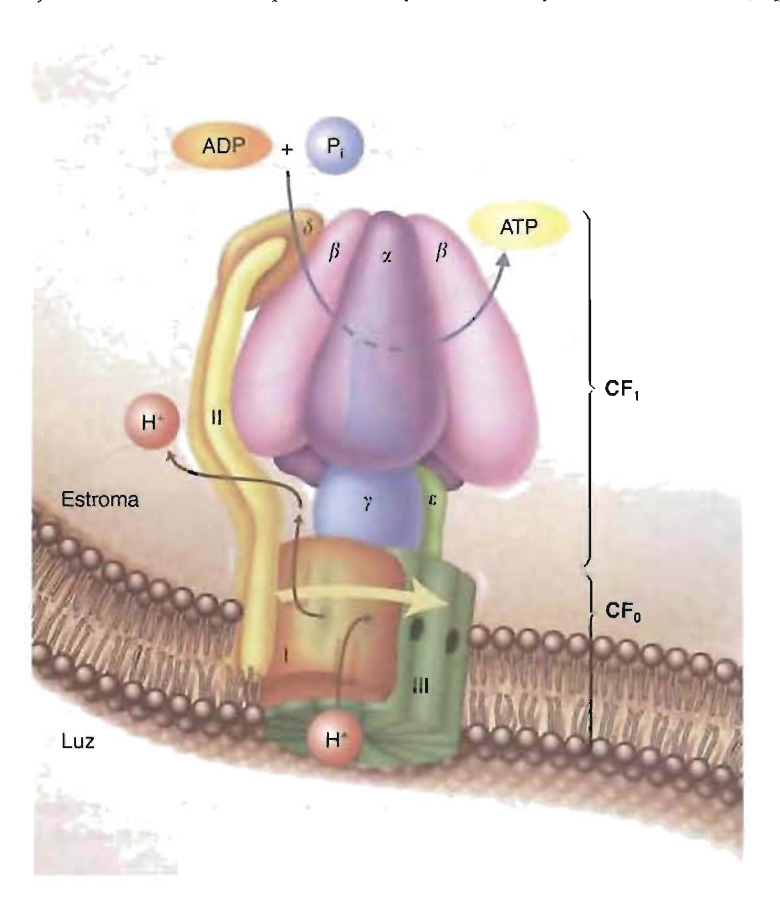


FIGURA 13-4

Representación esquemática de la ATP sintasa del cloroplasto.

La ATP sintasa está formada por dos componentes: un complejo proteico integral de membrana (CF_0) que contiene un poro protónico, y un complejo proteico extrínseco (CF_1) que sintetiza el ATP. El CF_0 contiene cuatro tipos diferentes de subunidades: I, II, III y IV. El poro protónico está formado por varias copias de la subunidad II. La subunidad IV (que no se muestra) une CF_0 a CF_1. El CF_1 consta de cinco subunidades diferentes: α, β, γ, δ y ε.

ta dentro del estroma, posee actividad sintetizadora de ATP. Aunque no se conoce el mecanismo real de la síntesis de ATP en los cloroplastos, está claro que el gradiente de protones transmembrana que se produce durante el transporte de electrones impulsado por la luz da lugar a la fosforilación del ADP. Se cree que para sintetizar cada molécula de ATP se requiere el bombeo de aproximadamente 3 protones a través de la membrana dentro del espacio tilacoide. La ATP sintasa se encuentra en la membrana tilacoide que está directamente en contacto con el estroma.

PREGUNTA 13.1

Describa dónde se localiza en el cloroplasto cada una de las moléculas, complejos moleculares o procesos siguientes. Explique sus funciones.

a. LHCII
b. luteína
c. PSII
d. MSP
e. CF_0CF_1
f. P700
g. P680
h. generación de O_2

13.2. Luz

El sol emite energía en forma de radiación electromagnética, que se propaga a través del espacio en forma de ondas, parte de las cuales chocan contra la Tierra. La luz visible, la fuente de energía que impulsa la fotosíntesis, ocupa una pequeña parte del espectro de radiación electromagnética (Fig. 13-5). Muchas de las propiedades de la

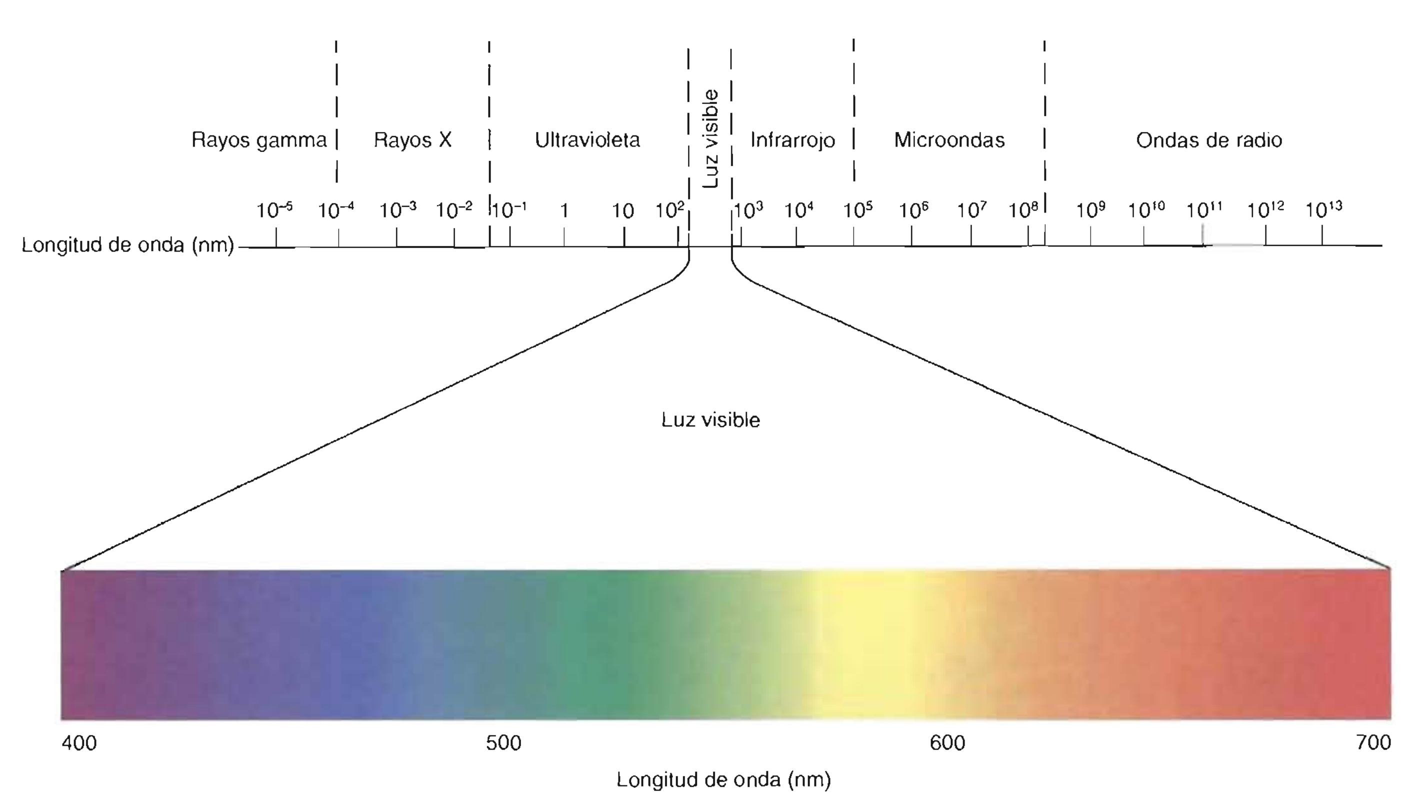
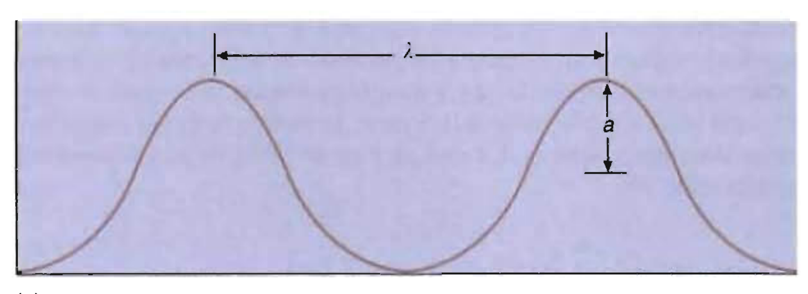


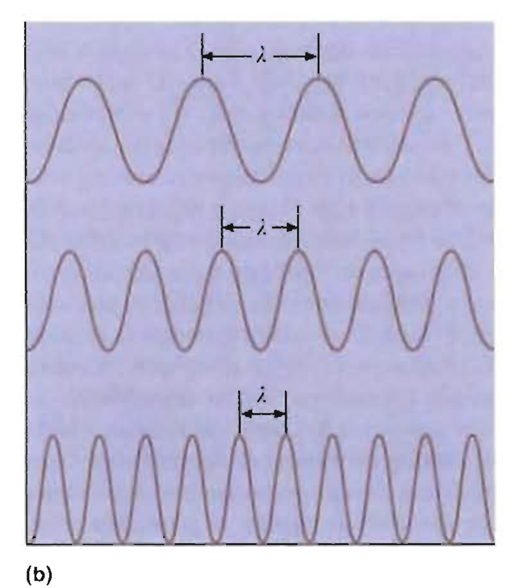
FIGURA 13-5

Espectro electromagnético.

Los rayos gamma, que tienen longitudes de onda cortas, poseen energía elevada. En el otro extremo del espectro, las ondas de radio (longitudes de onda largas) tienen energía baja. La luz visible es la parte del espectro a la que son sensibles los pigmentos visuales de la retina de los ojos. Las moléculas de pigmento de los cloroplastos son también sensibles a porciones del espectro visible.



(a)



(b)

FIGURA 13-6

Propiedades de las ondas.

(a) La longitud de onda λ es la distancia entre dos picos consecutivos de una onda. La amplitud a o altura de la onda está relacionada con la radiación electromagnética. (b) La frecuencia es el número de ondas que pasan por un punto del espacio por segundo. La radiación con la longitud de onda más corta es la que tiene la frecuencia más alta.

luz se explican por su comportamiento ondulatorio (Fig. 13-6). Las ondas de energía se describen mediante los términos siguientes:

1. **Longitud de onda.** La longitud de onda λ es la distancia entre la cresta de una onda y la cresta de la onda siguiente.
2. **Amplitud.** La amplitud a es la altura de la onda. La intensidad de la radiación electromagnética (p. ej., la luminosidad de la luz) es proporcional a a^2.
3. **Frecuencia.** La frecuencia ν es el número de ondas que pasan por un punto del espacio por segundo.

Para cada tipo de radiación, la longitud de onda multiplicada por la frecuencia es igual a la velocidad c de la radiación.

$$\lambda\nu = c$$

Esta ecuación se reagrupa a

$$\lambda = c/\nu$$

La longitud de onda depende, por lo tanto, de la frecuencia y de la velocidad de la onda.

Las longitudes de onda de la luz visible van desde 400 nm (luz violeta) a 700 nm (luz roja). En comparación, los rayos X y las radiaciones γ muy energéticas poseen longitudes de onda que son de 10 mil a 10 millones de veces más cortas. En el otro extremo del espectro se encuentran las ondas de radio de baja energía, que poseen longitudes de onda del orden de metros a kilómetros.

¿Por qué las ondas de luz verde tienen menos energía que las ondas de luz azul? **PREGUNTA 13.2**

Además de comportarse como una onda, la luz visible (y otros tipos de radiación electromagnética) exhiben propiedades de las partículas como la masa y la aceleración. (La observación de Einstein de que la energía tiene masa, o $E = mc^2$, se aplica al fotón.) Cuando la luz interacciona con la materia, lo hace en paquetes discretos de energía que se denominan fotones. La energía ε de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación.

$$\varepsilon = h\nu$$

donde h es la constante de Planck (6.63×10^{-34} J·s).

De acuerdo con la teoría cuántica, la energía radiante sólo puede absorberse o emitirse en cantidades específicas denominadas cuantos. Cuando una molécula absorbe un cuanto de energía, se impulsa un electrón desde su orbital de estado basal (el nivel de energía más bajo) a un orbital superior (Fig. 13-7). Para que se produzca la absorción, la diferencia de energía entre los dos orbitales debe ser exactamente igual a la energía del fotón absorbido. Las moléculas complejas suelen absorber energía de varias longitudes de onda. Por ejemplo, la clorofila produce un espectro de absorción con picos amplios y múltiples (región azul-violeta y región roja). Ambos hechos sugieren que la clorofila absorbe fotones de muchas energías diferentes con probabilidades variables. Aquellas longitudes de onda que no se absorben son las que vemos con nuestros ojos, por lo que una disolución de clorofila (o una hoja) se ven verdes. El espectro de absorción de la clorofila y otros pigmentos se considera en Métodos Bioquímicos 13.1. Las moléculas que absorben energías electromagnética poseen estructuras que se denominan cromóforos. En los **cromóforos**, los electrones se mueven fácilmente a niveles superiores de energía cuando se absorbe energía. Los cromóforos visibles poseen cadenas extendidas de dobles enlaces conjugados y anillos aromáticos. Las moléculas con un número pequeño de dobles enlaces conjugados o dobles enlaces aislados absorben energía de la parte ultravioleta del espectro electromagnético. En otras palabras, sin la estabilización por resonancia que proporciona un número suficiente de dobles enlaces, se requiere la absorción de energía considerable para que un electrón alcance un orbital superior.

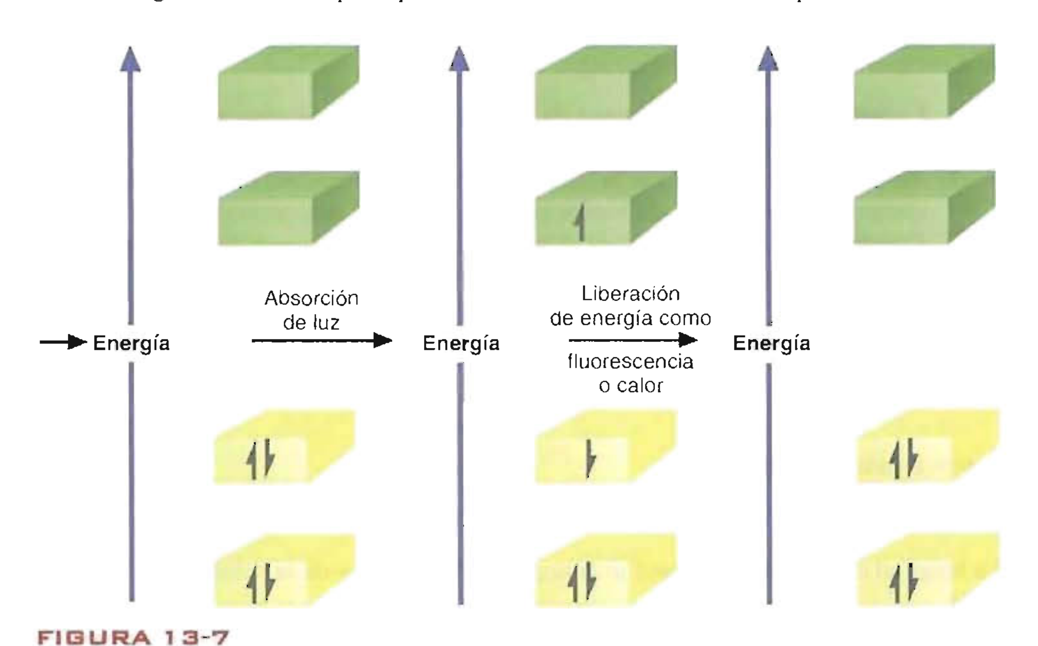


FIGURA 13-7

Absorción de la luz por un electrón.

Si una molécula absorbe un fotón, se excita un electrón que se mueve a un orbital más alto. Normalmente no hay cambio del espín del electrón excitado. Mientras los espines de los dos electrones desapareados permanecen antiparalelos, la molécula se dice que está en un estado singlete excitado. Una molécula excitada puede volver a su estado basal liberando energía como fluorescencia o calor. Además, la energía puede transferirse a otra molécula, o el mismo electrón energetizado puede cederse a otra molécula.

Una vez excitado un electrón, puede volver al estado basal de varias formas:

1. **Fluorescencia.** En la **fluorescencia** el estado excitado de una molécula desaparece al emitir un fotón. Debido a que el electrón excitado pierde inicialmente parte de la energía relajándose a un estado vibratorio (energético) menor, una transición consecuencia de la emisión de un fotón tiene una energía menor (longitud de onda mayor) que la del fotón que se absorbió originalmente. La emisión de fluorescencia puede tener lugar en 10^{-15} s. (Aunque diversas clorofilas absorben energía luminosa de todo el espectro visible, sólo emiten fotones con energía baja en el extremo rojo del espectro visible o más allá.)
2. **Transferencia de energía de resonancia.** En la **transferencia de energía de resonancia**, la energía de excitación se transfiere a una molécula vecina mediante una interacción entre orbitales moleculares adyacentes. Una molécula vecina cuyo espectro de absorción se solape con el espectro de emisión del cromóforo diana puede absorber los fotones liberados cuando ese cromóforo vuelve a su estado basal.
3. **Oxidación-reducción.** Se transfiere un electrón excitado a una molécula cercana. Un electrón excitado ocupa un orbital normalmente desocupado y está unido con menor fuerza que cuando ocupa un orbital normalmente lleno. Una molécula con un electrón excitado es un agente reductor fuerte. Vuelve a su estado basal reduciendo a otra molécula.
4. **Descenso sin radiación.** La molécula excitada vuelve a su estado basal convirtiendo la energía de excitación en calor.

De todas estas respuestas a la absorción de energía, las más importantes en la fotosíntesis son la transferencia de energía de resonancia y la oxidación-reducción. La transferencia de energía de resonancia desempeña una función crucial en la recogida de energía por las moléculas de pigmentos accesorios (Fig. 13-8). Finalmente, la energía absorbida o transmitida por los complejos recolectores de energía alcanza

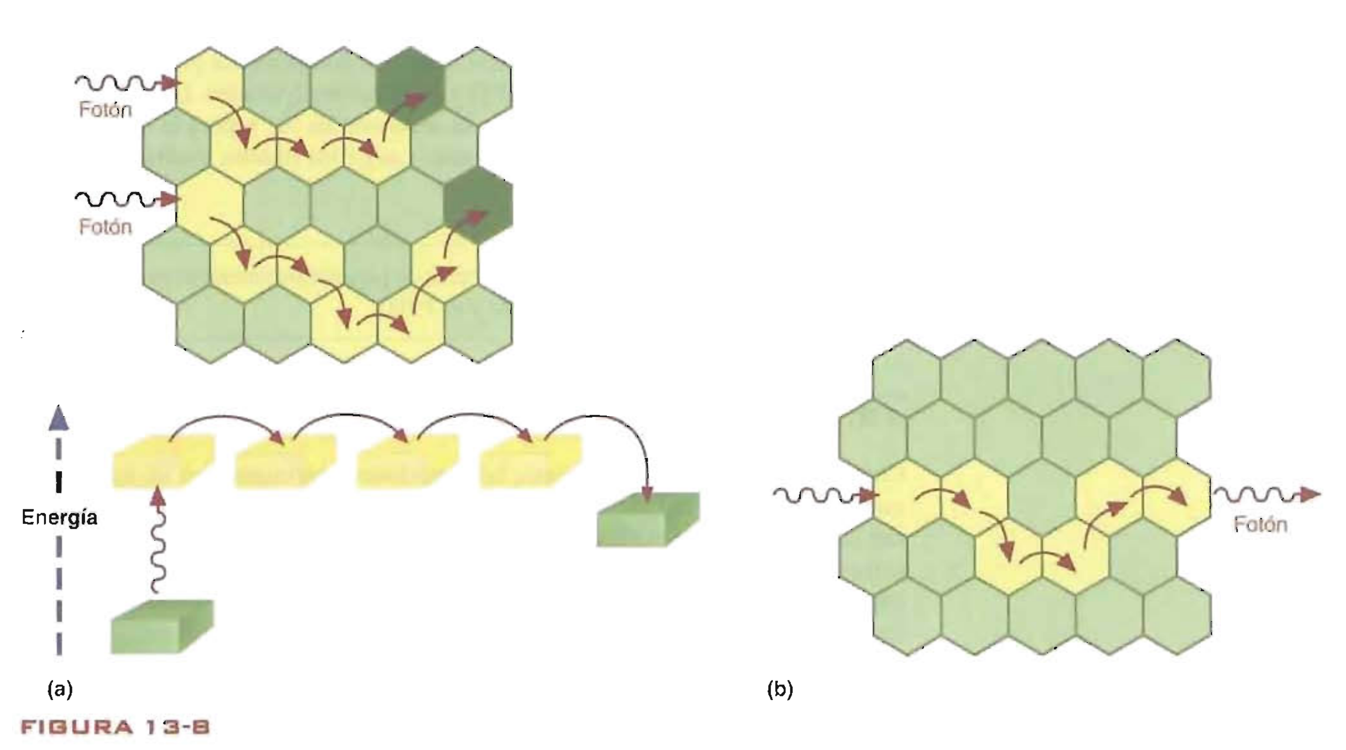


FIGURA 13-8

Transferencia de energía de resonancia.

La energía fluye a través de un complejo recolector de luz. (a) Cuando una molécula en un complejo recolector de luz absorbe un protón, migra aleatoriamente a través del complejo por transferencia de energía de resonancia. La energía se cede desde una molécula antena a otra (hexágonos amarillos) hasta que es atrapada por un centro de reacción (hexágonos verde oscuro) o es nuevamente emitida (b). El centro de reacción atrapa la energía de excitación debido a que su estado menos excitado tiene una energía menor que la de la molécula antena.

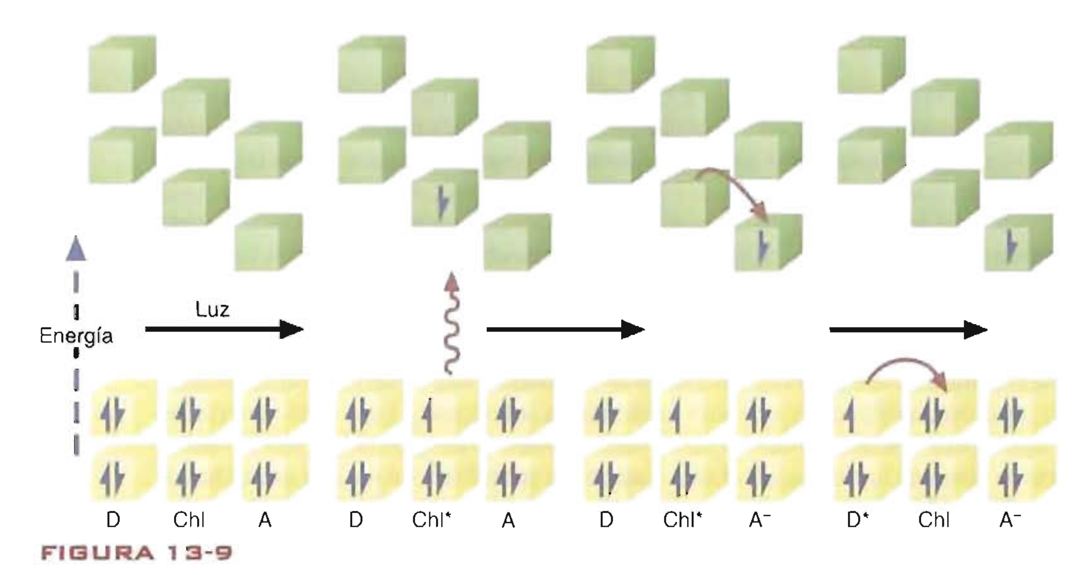


FIGURA 13-9

Transferencia electrónica.

La transferencia electrónica inicia la fotosíntesis. Cuando se absorbe energía luminosa por un complejo de clorofila (Chl), se transfiere un electrón a un aceptor (A). El complejo de clorofila oxidado (Chl*) extrae un electrón de un donador (D).

CONCEPTOS CLAVE 13.3

La energía luminosa que absorben los cromóforos hace que los electrones se muevan a niveles de energía mayores. En la fotosíntesis la absorción de energía se utiliza para impulsar el flujo electrónico.

las moléculas de clorofila del centro de reacción. Cuando se excitan estas moléculas, pueden perder un electrón hacia una molécula aceptora específica (Fig. 13-9). El P700 cede los electrones a la ferredoxina (una proteína hierro-azufre) y el P680 los pasa a la feofitina a. (Una vez oxidados el P700 y el P680, se denominan P700* y P680*.) El hueco electrónico que queda en las moléculas de clorofila del centro de reacción se llena con un electrón de una molécula donadora. La plastocianina y el agua desempeñan esta función en el PSI y PSII, respectivamente. La fluorescencia actúa también en la fotosíntesis cuando la absorción de luz supera la capacidad de transferencia de energía de los fotosistemas. Luego los fotones vuelven a emitirse mediante un mecanismo protector.

PREGUNTA 13.3

Explique la observación de que las moléculas de pigmentos antena tienen espectros de absorción diferentes a los del P680 y el P700.

13.3. REACCIONES LUMINOSAS

Como se ha descrito anteriormente, las **reacciones luminosas** son un mecanismo mediante el cual se proporciona energía a los electrones que posteriormente se utilizan para la síntesis de ATP y NADPH. En las especies que utilizan O_2 se requieren ambos fotosistemas. (En otras especies sólo se utiliza el fotosistema I.) Durante la fotosíntesis, los dos fotosistemas acoplan la oxidación de las moléculas de agua impulsada por la luz a la reducción del $NADP^+$. La reacción global es

$$2\ NADP^+ + 2\ H_2O \rightleftharpoons 2\ NADPH + O_2 + 2\ H^+$$

Dado que los potenciales de reducción estándar de las semi-reacciones son

$$O_2 + 4\ e^- + 4\ H^+ \rightleftharpoons 2\ H_2O \qquad E^{0\prime} = +0.816\ V$$

y

$$NADP^+ + H^+ + 2\ e^- \rightleftharpoons NADPH\ E^{0\prime} = -0.320\ V$$

el proceso acoplado tiene un potencial de reducción estándar de −1.136 V. La variación mínima de energía libre de este proceso (calculada utilizando la ecuación $\Delta G_0' = -nF\Delta E^{0'}$; Sección 9.1) es aproximadamente 438 kJ (104.7 kcal) por mol de O_2 generado. En comparación, un mol de fotones de 700 nm de longitud de onda proporciona aproximadamente 170 kJ (40.6 kcal). Las observaciones experimentales han descubierto que se requiere la absorción de 8 o más fotones (es decir, 2 fotones por electrón por cada O_2 generado. Por consiguiente, se absorben un total de 1360 kJ (325 kcal) por cada mol de O_2 que se produce. Esta energía es más que suficiente para reducir el $NADP^+$ y establecer el gradiente de protones para la síntesis de ATP.

El proceso de fotosíntesis impulsado por la luz comienza con la excitación del PSII por la energía luminosa. Se transfiere cada vez un electrón a una cadena de transportadores electrónicos que conecta los dos fotosistemas. Al transferirse los electrones desde el PSII al PSI, se bombean protones a través de la membrana tilacoide desde el estroma al espacio tilacoide. Se sintetiza el ATP al regresar los protones al estroma a través de la ATP sintasa. Cuando el P700 absorbe otro fotón libera un electrón energetizado. (Este electrón se sustituye inmediatamente por un electrón que proporciona el PSII.) El electrón energetizado pasa a través de un conjunto de proteínas hierro-azufre y una flavoproteína hasta el $NADP^+$. Esta secuencia, que se denominan **esquema Z**, se presenta en le Figura 13-10. En la Figura 13-11 se da una representación más detallada del esquema Z.

Fotosistema II y generación de oxígeno

Cuando el LHCII absorbe un fotón, su energía se transfiere, como se ha descrito antes, al PSII P680. Luego se cede un electrón energetizado a la *feofitina a* (véase la Fig. 13-1), una molécula de estructura semejante a la de la clorofila. La feofitina a reducida pasa este electrón a la Q_A (plastoquinona). Cuando se transfiere un segundo electrón del P680 y se transfieren 2 protones del estroma, se forma la plastoquinona reducida (Q_AH_2), que también se denomina plastoquinol:

Plastoquinona $\overset{2\,H^+,\ 2\,e^-}{\rightleftharpoons}$ Plastoquinol

De uno en uno, la Q_AH_2 cede sus 2 electrones a la Q_B. En la reducción de Q_B se utilizan otras dos proteínas del estroma. La Q_B reducida (Q_BH_2) cede sus electrones al complejo citocromo b_6f. Finalmente, el complejo citocromo b_6f cede sus electrones a la plastocianina (PC), una proteína periférica de membrana móvil. La PC, un transportador de un solo electrón, transfiere posteriormente estos electrones al P700 en el PSI.

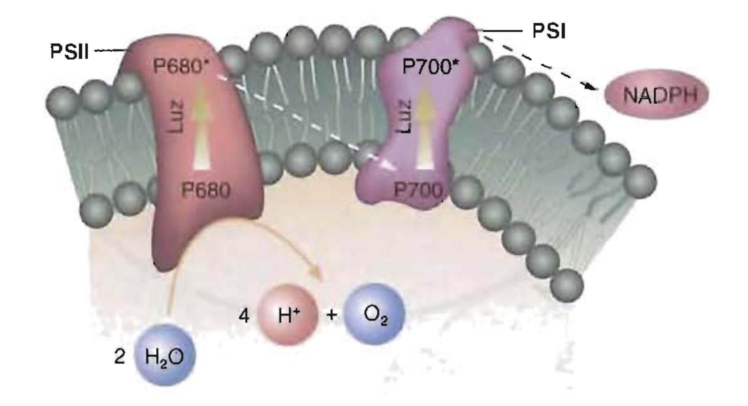


FIGURA 13-10
Esquema Z.
Para impulsar un electrón desde el H_2O al $NADP^+$ deben absorberse dos fotones. Las flechas representan el flujo de electrones. La disposición vertical de los componentes está establecida según sus valores de $E^{0'}$. Los valores más negativos están en la parte superior de la figura. Al moverse los electrones de un transportador al siguiente, sus valores de $E^{0'}$ se van haciendo menos negativos.

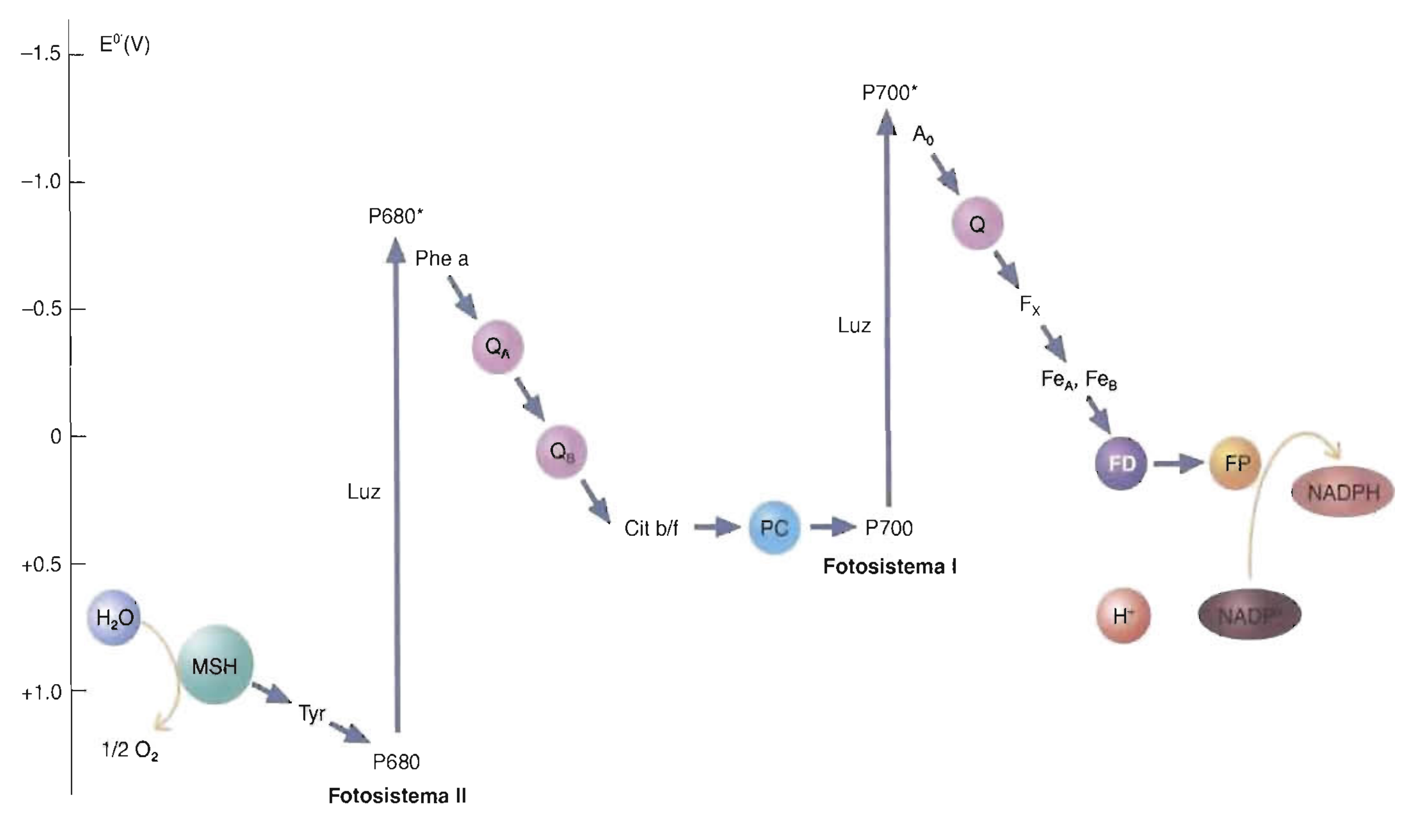


FIGURA 13-11

Más detalles del esquema Z.

El flujo de electrones desde el fotosistema II al fotosistema I impulsa el transporte de protones dentro de la luz tilacoide. No se comprende la transferencia electrónica a través de las proteínas hierro-azufre Fe_A y Fe_B. Los valores de $E^{0'}$ son aproximados. MSP contiene un grupo manganeso. (MSP = proteína estabilizante de manganeso.)

Recuerde que los electrones que se transfieren desde el P680 se sustituyen cuando el H_2O se oxida. El responsable de la transferencia de electrones desde el H_2O al P680* es un *complejo que forma oxígeno*, constituido en parte por la agrupación de manganeso del MSP y por el residuo de tirosina situado en D_1. (La tirosina transfiere eficazmente electrones debido a que el radical tirosilo que se forma se estabiliza por resonancia.) La formación de un O_2 requiere el fraccionamiento de dos H_2O, que libera 4 protones y 4 electrones. Las pruebas experimentales indican que el H_2O se convierte en O_2 por un mecanismo que se denomina *reloj oxidante del agua* (Fig. 13-12). El

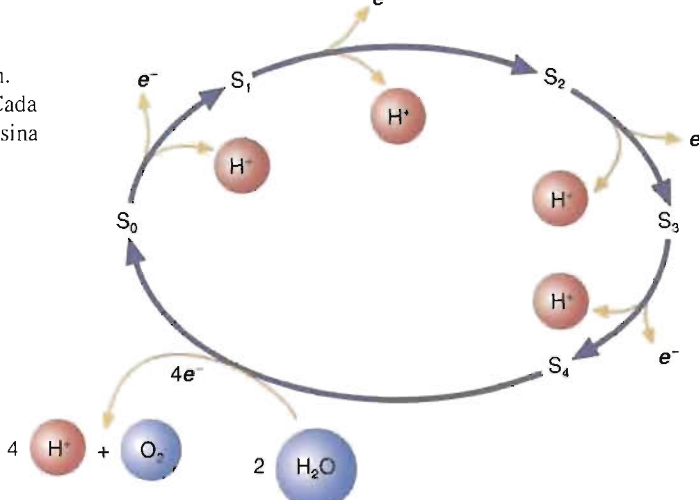


FIGURA 13-12

Reloj oxidante del agua.

El aparato que forma O_2 posee cinco estados de oxidación. Se eliminan cuatro electrones por cada O_2 que se forma. Cada electrón se transfiere secuencialmente a un residuo de tirosina (Y_Z) y luego al P680. Durante el ciclo también se liberan protones.

complejo que forma el O_2 tiene cinco estados de oxidación: S_0, S_1, S_2, S_3 y S_4. S_0 es el estado más reducido y S_4 el estado más oxidado del complejo. Actualmente se cree que la agrupación de Mn, un conjunto de cuatro átomos de manganeso unido al MSP cerca del centro de reacción PSII, es el principal responsable de estas transiciones. Al extraer los electrones y los protones del H_2O, el complejo que forma el oxígeno se recicla a través de cinco estados de oxidación. Los electrones se transfieren de uno en uno a un residuo de tirosina en el polipéptido D_1 y luego al centro de reacción P680. Los protones liberados en el proceso permanecen en la luz tilacoide, donde contribuyen al gradiente de pH que impulsa la síntesis de ATP.

PREGUNTA 13.4

Las cantidades excesivas de luz pueden anular la fotosíntesis. Las investigaciones recientes indican que el PSII es extremadamente vulnerable al daño por la luz. Los vegetales frecuentemente sobreviven a este daño porque tienen sistemas eficaces de reparación. Parece que las células eliminan y vuelven a sintetizar los componentes dañados y reciclan los que no están dañados. Por ejemplo, el polipéptido D_1, aparentemente el componente más vulnerable del PSII, se sustituye rápidamente tras su daño. Tras revisar la función del PSII, sugiera el próximo motivo del daño de D_1 que produce la luz. (*Pista*: el dímero D_1/D_2 une dos moléculas de β-caroteno.)

Fotosistema I y síntesis de NADPH

Como se ha descrito, la absorción de un fotón por el P700 conduce a la liberación de un electrón energetizado. Este electrón luego pasa a través de una serie de transportadores electrónicos, el primero de los cuales es una molécula de clorofila a (A_0). Al cederse el electrón secuencialmente a la filoquinona (Q) y a varias proteínas hierro-azufre (la última de las cuales es la ferredoxina) se mueve desde la superficie de la luz de la membrana tilacoide a la superficie del estroma. La ferredoxina, una proteína hidrosoluble móvil, cede a continuación cada electrón a una flavoproteína que se denomina ferredoxina-NADP oxidorreductasa (FNR). La flavoproteína utiliza un total de 2 electrones y un protón del estroma para reducir el $NADP^+$ a NADPH. La transferencia de electrones desde la ferredoxina al $NADP^+$ se denomina *ruta de transporte electrónico acíclica*. En algunas especies (p. ej., las algas), los electrones pueden volver al PSI por medio de una *ruta de transporte electrónico cíclica* (Fig. 13-13). En este proceso, que tiene lugar cuando un cloroplasto tiene un cociente $NADPH/NADP^+$ elevado, no se produce NADPH, sino que los electrones se utilizan para bombear más protones a través de la membrana tilacoide. Como consecuencia, se sintetizan más moléculas de ATP.

PREGUNTA 13.5

Describa la función de cada una de las moléculas siguientes en la fotosíntesis:

a. plastocianina
b. β-caroteno
c. ferredoxina
d. plastoquinona
e. feofitina a
f. luteína

PREGUNTA 13.6

Dado que el PSII y el PSI actúan en serie, la fotosíntesis es eficaz cuando reciben luz con tasas iguales. La investigación reciente indica que la fosforilación contribuye a equilibrar las actividades de los dos fotosistemas. Tras revisar las propiedades estructurales y funcionales del PSI, el PSII y el LHCII, describa las funciones reguladoras de la plastoquinona y de las actividades enzimáticas quinasa y fosfatasa que hacen posible la regulación equilibrada del PSI y del PSII. Revise los efectos de la modificación covalente de las proteínas (Capítulo 5) y sugiera por qué la fosforilación tiene este efecto sobre la fotosíntesis.

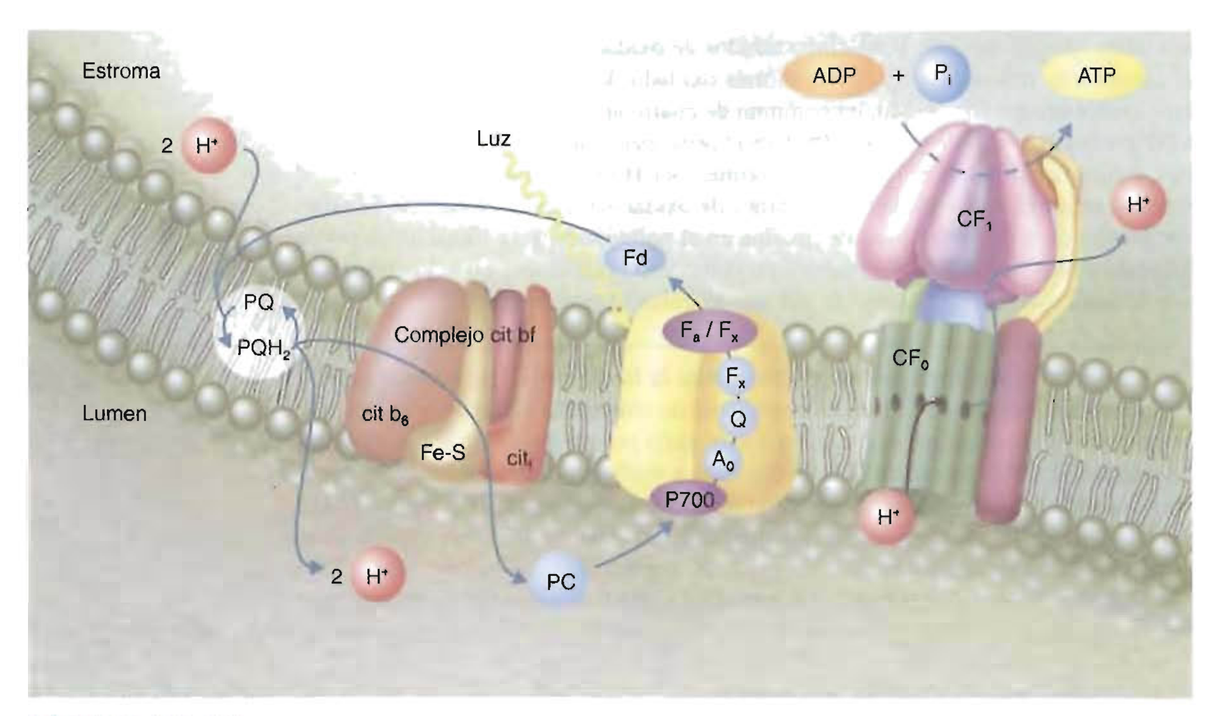


FIGURA 13-13

Ruta cíclica de transporte electrónico.

Un ciclo Q semejante al que se observa en la ruta de transporte electrónico que liga el PSI y el PSII se cree que es el responsable del bombeo de 2 protones a través de la membrana tilacoide por cada electrón que se transporta. El flujo de protones impulsa la síntesis de ATP. No se produce NADPH.

Fotofosforilación

Durante la fotosíntesis la energía luminosa capturada por el fotosistema de un organismo se transduce (es decir, se convierte de una forma gen otra) en energía de enlace fosfato del ATP. Esta conversión se denomina **fotofosforilación**. De lo expuesto anteriormente está claro que entre la síntesis de ATP en las mitocondrias y en los cloroplastos existen muchas semejanzas. Por ejemplo, muchas de las moléculas y términos que se han visto en la respiración aerobia (Capítulo 10) son también relevantes cuando se considera la fotosíntesis. Además, en ambos orgánulos el transporte electrónico se utiliza para inducir un gradiente de protones, que luego impulsa la síntesis de ATP. Aunque entre la respiración aerobia y la fotosíntesis hay muchas diferencias, la diferencia esencial entre los dos procesos es la conversión de la energía luminosa en energía redox por los cloroplastos. (Recuerde que las mitocondrias producen energía redox mediante la extracción de electrones de energía elevada de las moléculas de alimento.) Otra diferencia sustancial son las características de permeabilidad de la membrana mitocondrial interna y la membrana tilacoide. Al contrario que la membrana interna, la membrana tilacoide es permeable al Mg^{2+} y al Cl^-. Por lo tanto, el Mg^{2+} y el Cl^- se mueven a través de la membrana tilacoide al transportarse los electrones y los protones durante la reacción luminosa. El gradiente electroquímico a través de la membrana tilacoide que impulsa la síntesis de ATP consta, por lo tanto, principalmente de un gradiente de protones que puede ser de hasta 3.5 unidades de pH.

CONCEPTOS CLAVE 13.4

Las células fotosintetizadoras eucariotas poseen dos fotosistemas, PSI y PSII, que están conectados en serie en un mecanismo que se denomina esquema Z. El reloj de oxidación del agua componente del PSII genera O_2. Los protones se utilizan en la síntesis de ATP en un mecanismo quimiosmótico. El PSI es el responsable de la síntesis de NADPH.

Aunque las observaciones experimentales de los cloroplastos han sido fundamentales en la formulación de la teoría quimiosmótica, aún permanecen sin aclararse varios temas relacionados con la síntesis de ATP. El más destacado de ellos es el cociente $H^+/2\ e^-$. Observe que en las reacciones luminosas que se describen en la Figura 13-14, por cada par de electrones se transportan un total de seis iones H^+. Dado que se requiere el movimiento de tres iones H^+ a través de la ATP sintasa para

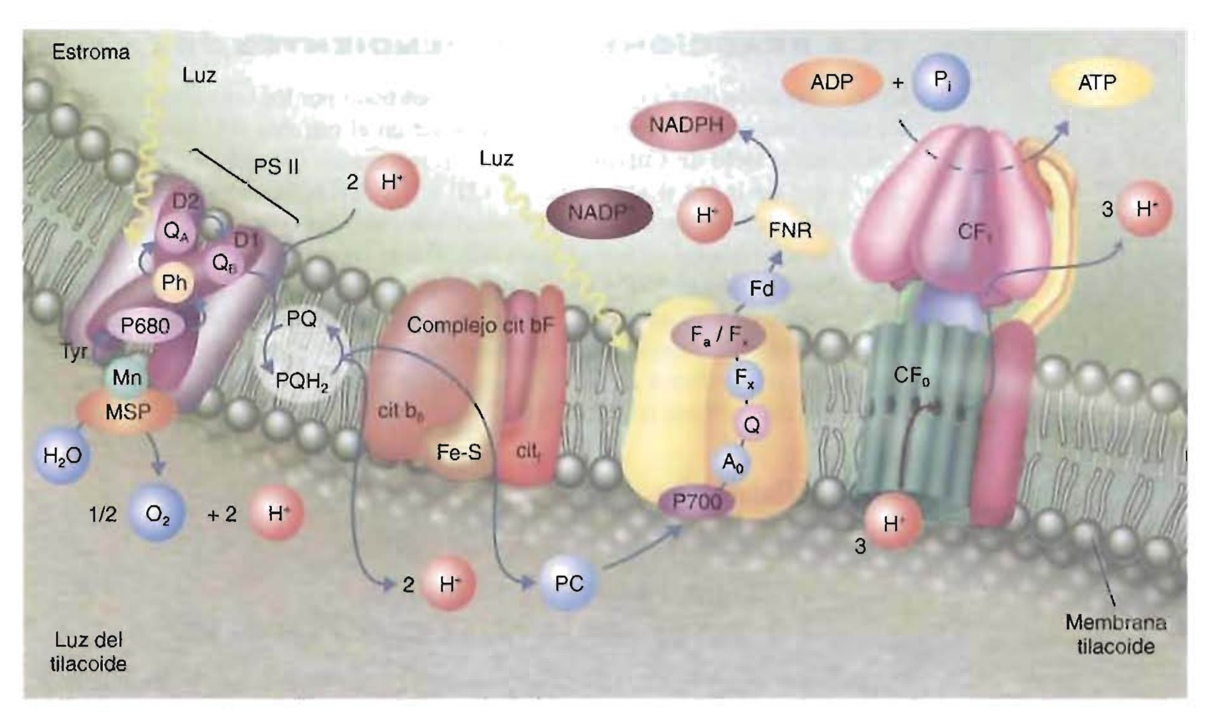


FIGURA 13-14

Organización en la membrana de las reacciones luminosas en los cloroplastos: Cadena de transporte electrónico y complejo ATP sintasa.

Al moverse 2 electrones desde cada molécula de agua al $NADP^+$ (flechas azules), se bombean alrededor de dos H^+ desde el estroma a la luz del tilacoide. Se generan otros dos H^+ dentro de la luz por el complejo que forma oxígeno. El flujo de protones a través del poro protónico en CF_0 impulsa la síntesis de ATP en CF_1. (MSP = proteína estabilizante de manganeso; ph = feofitina; Fd = ferredoxina; FNR = ferredoxina-NADP oxidorreductasa.)

que se sintetice una molécula de ATP, por cada molécula de NADPH que se sintetiza se producen dos moléculas de ATP. Sin embargo, en algunas circunstancias (ej., intensidad luminosa elevada) se ha observado un cociente cercano a $4H^+/2\,e^-$. Con este cociente, por cada molécula de NADPH se sintetizan aproximadamente 1.3 moléculas de ATP. Se desconoce la razón de la reducción del cociente. Las pruebas experimentales más recientes indican que bajo una intensidad de luz elevada el complejo citocromo b_6f no logra bombear los 2 protones adicionales.

PREGUNTA 13.7

Describa el efecto de las moléculas desacopladoras sobre la síntesis de ATP en los cloroplastos. Compárelo con lo que se observa en las mitocondrias.

PREGUNTA 13.8

Cuando se colocan los cloroplastos primero en una disolución ácida (pH = 4) y luego se transfieren a una disolución básica (pH = 8), hay un estallido breve y rápido de la síntesis de ATP. Explíquelo.

PREGUNTA 13.9

Diversos herbicidas destruyen las plantas inhibiendo el transporte electrónico fotosintético. La atrazina, un herbicida de triazina, bloquea el transporte electrónico entre Q_A y Q_B en el PSII. La DCMU (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea) bloquea también el flujo electrónico entre las dos moléculas de plastoquinona. El paraquat es un miembro de una familia de compuestos que se denominan herbicidas de bipiridilio. El paraquat se reduce por el PSI pero se reoxida fácilmente por el O_2 en un proceso que produce radicales superóxido e hidroxilo. Las plantas mueren porque los radicales destruyen sus membranas. De los herbicidas que se han presentado, determine cuál, si es que hay alguno, que probablemente sea tóxico para el ser humano y otros animales. ¿Qué daños específicos pueden tener lugar?

13.4 REACCIONES INDEPENDIENTES DE LA LUZ

La incorporación del CO_2 en los hidratos de carbono por los organismos eucariotas fotosintetizadores, un proceso que tiene lugar en el estroma del cloroplasto, suele denominarse **ciclo de Calvin**. Dado que las reacciones del ciclo de Calvin pueden tener lugar sin la luz si se suministra ATP y NADPH suficiente, se las ha llamado reacciones oscuras. Sin embargo, el nombre de *reacciones oscuras* es algo engañoso. Las reacciones del ciclo de Calvin sólo tienen lugar cuando la planta está iluminada, debido a que el ATP y el NADPH se producen por las reacciones luminosas. Por lo tanto, es más adecuado el término **reacciones independientes de la luz**. Debido al tipo de reacciones que tienen lugar en el ciclo de Calvin, también se denomina *ciclo reductor de las pentosas fosfato* (ciclo RPP) y *ciclo fotosintético de reducción del carbono* (ciclo PCR).

Ciclo de Calvin

La ecuación neta del ciclo de Calvin (Fig. 13-15) es

$$3\ CO_2 + 6\ NADPH + 9\ ATP \longrightarrow$$
$$\text{Gliceraldehído-3-fosfato} + 6\ NADP^+ + 9\ ADP + 8\ P_i$$

Por cada tres moléculas de CO_2 que se incorporan en moléculas de hidrato de carbono, existe una ganancia neta de una molécula de gliceraldehído-3-fosfato. La fijación de seis CO_2 en una molécula de hexosa tiene lugar a expensas de 12 NADPH y 18 ATP. Las reacciones del ciclo pueden dividirse en tres fases:

1. Fijación del carbono. La fijación del carbono, el mecanismo por el que se incorpora el CO_2 inorgánico a las moléculas orgánicas, consta de una única reacción. La ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa cataliza la carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de glicerato-3-fosfato. Las plantas que producen glicerato-3-fosfato como primer producto estable de la fotosíntesis se denominan **plantas C3**. (En el Recuadro de Interés Especial 13.2 se describen excepciones notables.) La ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, una molécula compleja formada por ocho subunidades grandes (L) (56 kD) y ocho subunidades pequeñas (S) (14 kD), es la enzima marcapasos del ciclo de Calvin. Su actividad está regulada por el CO_2, el O_2, el Mg^{2+} y el pH, así como por otros metabolitos. Cada subunidad L contiene un lugar activo que une el sustrato. La actividad catalítica de las subunidades L se potencia por las subunidades S. Debido a que la reacción de fijación del CO_2 es sumamente lenta, las plantas lo compensan produciendo un número muy grande de copias de la enzima, que frecuentemente constituye aproximadamente la mitad de la proteína soluble de una hoja. Por esta razón, la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa suele describirse como la enzima más abundante del mundo.

2. Reducción. La siguiente fase del ciclo consta de dos reacciones. Se fosforilan seis moléculas de glicerato-3-fosfato a expensas de seis moléculas de ATP para formar glicerato-1,3-bisfosfato. Esta última molécula se reduce a continuación por la $NADP^+$-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa para formar seis moléculas de gliceraldehído-3-fosfato. Estas reacciones son semejantes a las reacciones de la gluconeogénesis. A diferencia de la deshidrogenasa de la gluconeogénesis, la enzima del ciclo de Calvin utiliza NADPH como reductor.

3. Regeneración. Como se ha señalado antes, la producción neta de carbono fijado en el ciclo de Calvin es de una molécula de gliceraldehído-3-fosfato. Las otras cinco moléculas de gliceraldehído-3-fosfato se procesan en las restantes reacciones del ciclo de Calvin para regenerar tres moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato. Dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato se isomerizan para formar dihidroxiacetona fosfato. Una molécula de dihidroxiacetona fosfato se combina con una tercera molécula de gliceraldehído-3-fosfato para formar fructosa-2,6-bisfosfato. Esta última molécula se hidroliza a fructosa-6-fosfato que a continuación se combina con una cuarta molécula de gliceraldehído-3-fosfato para formar xilulosa-5-fosfato y eritro-

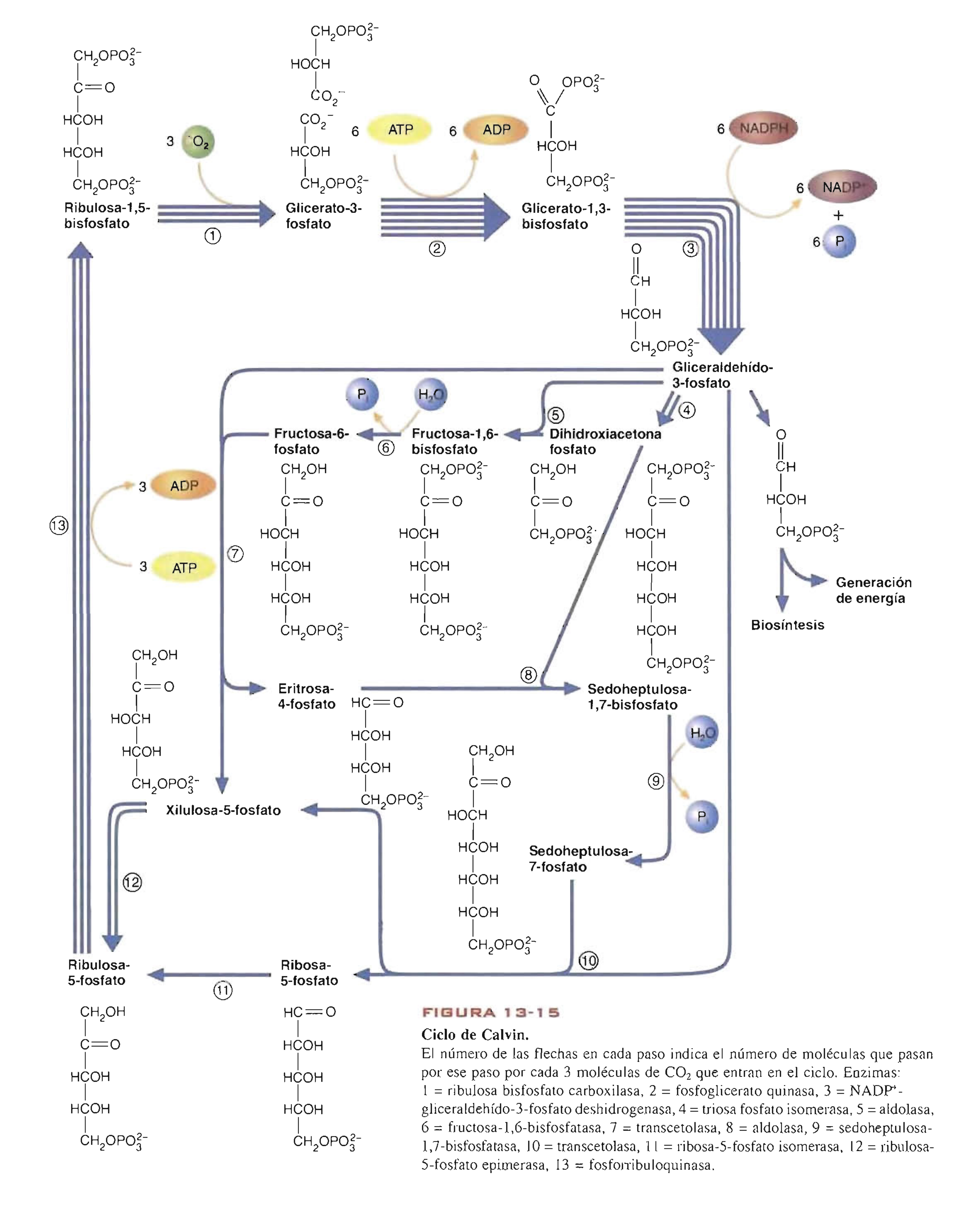


FIGURA 13-15

Ciclo de Calvin.

El número de las flechas en cada paso indica el número de moléculas que pasan por ese paso por cada 3 moléculas de CO_2 que entran en el ciclo. Enzimas: 1 = ribulosa bisfosfato carboxilasa, 2 = fosfoglicerato quinasa, 3 = $NADP^+$-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, 4 = triosa fosfato isomerasa, 5 = aldolasa, 6 = fructosa-1,6-bisfosfatasa, 7 = transcetolasa, 8 = aldolasa, 9 = sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa, 10 = transcetolasa, 11 = ribosa-5-fosfato isomerasa, 12 = ribulosa-5-fosfato epimerasa, 13 = fosforribuloquinasa.

sa-4-fosfato. Ésta se combina con la dihidroxiacetona fosfato para formar sedoheptulosa-1,7-bisfosfato, que posteriormente se hidroliza para formar sedoheptulosa-7-fosfato. La quinta molécula de gliceraldehído-3-fosfato se combina con la sedoheptulosa-7-fosfato para formar ribosa-5-fosfato y una segunda molécula de xilulosa-5-fosfato. La ribosa-5-fosfato y ambas moléculas de xilulosa-5-fosfato se isomerizan de forma independiente a ribulosa-5-fosfato. En el último paso, tres moléculas de ribulosa-5-fosfato se fosforilan a expensas de tres moléculas de ATP para formar tres moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato. La molécula restante de gliceraldehído-3-fosfato, o bien se utiliza dentro del cloroplasto en la síntesis de almidón, o bien se exporta al citoplasma donde puede emplearse en la síntesis de sacarosa u otros metabolitos.

PREGUNTA 13.10

La ecuación global de la fotosíntesis es

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O \xrightarrow{\text{luz}} C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

¿De cuál de los dos sustratos de esta ecuación son los átomos de oxígeno molecular que se forman?

PREGUNTA 13.11

Muchas de las reacciones de la fase de regeneración del ciclo de Calvin son similares a reacciones que hemos encontrado en capítulos previos de este libro de texto. Revise las reacciones de esta fase del ciclo de Calvin y determine a qué reacciones se parecen. (*Pista*: Revise el Capítulo 8.)

PREGUNTA 13.12

Cuando se iluminan las células vegetales, sus cocientes citoplásmicos ATP/ADP y NADH/NAD aumentan significativamente. Se cree que el mecanismo de lanzadera siguiente contribuye a la transferencia de ATP y equivalentes reductores desde el cloroplasto al citoplasma. Una vez que se han transportado la dihidroxiacetona fosfato desde el estroma al citoplasma se convierte en gliceraldehído-3-fosfato y luego en glicerato-1,3-bisfosfato. (Esta reacción es la inversa de la reacción de formación del gliceraldehído-3-fosfato durante la fijación del carbono.) En la reacción citoplásmica, los equivalentes reductores se ceden al NAD^+ para formar NADH. En una reacción posterior, el glicerato-1,3-bisfosfato se convierte en glicerato-3-fosfato con la producción simultánea de una molécula de ATP. Luego se transporta el glicerato-3-fosfato de vuelta al cloroplasto, donde vuelve a convertirse en gliceraldehído-3-fosfato.

Esta lanzadera disminuye de alguna manera los procesos de respiración mitocondrial. Revise la regulación de la respiración aerobia (Capítulo 9) y sugiera cómo disminuye la fotosíntesis este aspecto de la función mitocondrial.

Fotorrespiración

La **fotorrespiración** es quizá la característica más curiosa de la fotosíntesis. En este proceso, que depende de la luz, se consume oxígeno y se libera CO_2 por las células vegetales que activamente realizan la fotosíntesis. La fotorrespiración es un mecanismo de varios pasos que inicia la ribulosa bisfosfato carboxilasa. Además de su función de carboxilación, esta enzima posee también actividad oxigenasa. (Por esta razón algunas veces se utiliza el nombre de *ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa-oxigenasa* o *rubisco*.) Dado que el lugar activo de la enzima une CO_2 y O_2, estos sustratos compiten.

En la reacción de oxigenación, la ribulosa-1,5-bisfosfato se convierte en glicolato-2-fosfato y glicerato-3-fosfato (Fig. 13-16). En un conjunto complejo de reacciones el glicolato-2-fosfato se oxida por el O_2. Finalmente, el glicerato-3-fosfato que se produce en esta ruta se utiliza para producir (por el ciclo de Calvin) ribulosa-1,5-bisfosfato. La fotorrespiración es un proceso derrochador, ya que se pierde carbono fijado (como CO_2) y consume ATP y NADH.

La tasa de fotorrespiración depende de varios parámetros, entre los que se encuentran las concentraciones de CO_2 y O_2 a las que están expuestas las

O_2

Ribulosa-1,5-bisfosfato
(a)

Glicolato-2-fosfato

+

Glicerato-3-fosfato

P_i

Glicolato

O_2 H_2O_2

Peroxisomas

Glicolato
(b)

Glioxilato

NH_3 Glicina

CO_2 NH_3

H^+ + NADH

$NADP^+$

Oxidación (Mitocondrias)

Reducción

ADP ATP

Glicerato-3-fosfato (Peroxisomas)

FIGURA 13-16

Fotorrespiración.

La fotorrespiración es un proceso complejo de varios pasos que catalizan enzimas de varios compartimientos celulares. (a) La síntesis de glicolato tiene lugar dentro del estroma. (b) El glicolato se convierte en glioxilato dentro de los peroxisomas. En una serie compleja de reacciones que tiene lugar en los peroxisomas, las mitocondrias y el citoplasma, el glioxilato se convierte en glicerato-3-fosfato y CO_2.

células fotosintetizadoras. La fotorrespiración está reducida a concentraciones de CO_2 por encima del 0.2%. (Dado que la fotorrespiración y la fotosíntesis tienen lugar al mismo tiempo, durante la fijación de CO_2 se libera CO_2. Cuando las tasas de liberación y de fijación de CO_2 son iguales, se alcanza el *punto de compensación de CO_2*. Cuanto menor es el punto de compensación de CO_2, menor es la fotorrespiración. Muchas plantas C3 tienen puntos de compensación de CO_2 entre 0.02% y 0.03% de CO_2 en el aire cercano a las células fotosintetizadoras.) Por el contrario, las concentraciones elevadas de O_2 y las temperaturas elevadas estimulan la fotorrespiración. Por consiguiente, este proceso se favorece cuando las plantas se exponen a temperaturas elevadas y a cualquier condición que de lugar a concentraciones bajas de CO_2 y/o elevadas de O_2. Por ejemplo, la fotorrespiración es un problema serio para las plantas C3 en ambientes calurosos y secos. Para conservar el agua, estas plantas cierran sus estomas reduciendo de esta manera la concentración de CO_2 dentro del tejido de la hoja. (Los *estomas* son poros de la superficie de las hojas. Cuando están abiertos, el CO_2, el O_2 y el vapor de H_2O pueden difundir fácilmente a favor de los gradientes de concentración entre el interior de la hoja y el ambiente externo.) Además, al continuar la fotosíntesis, aumenta la concentración de O_2. De-

CONCEPTOS CLAVE 13.5

El ciclo de Calvin es un conjunto de reacciones independientes de la luz en las que el CO_2 se incorpora en moléculas orgánicas. Las reacciones del ciclo de Calvin tienen lugar en tres fases: fijación del carbono, reducción y regeneración. La fotorrespiración es un proceso derrochador en el que las células fotosintetizadoras forman CO_2.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 13.1. Metabolismo del almidón y de la sacarosa

Debido a que el gliceraldehído-3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato se interconvierten fácilmente, estas dos moléculas (a las que se denomina **triosas fosfato**) se consideran productos del ciclo de Calvin. La síntesis de triosas fosfato se denomina *ruta C3*. Las plantas que producen triosas fosfato durante la fotosíntesis se denominan *plantas C3*. Las moléculas de triosas fosfato las emplean las células de la planta en procesos de biosíntesis como la formación de polisacáridos, ácidos grasos y aminoácidos. Inicialmente, la mayor parte de las triosas fosfato se emplean en la síntesis de almidón y sacarosa (Fig. 13A). A continuación se presenta brevemente el metabolismo de cada una de estas moléculas.

Metabolismo del almidón

Durante los períodos muy activos de fotosíntesis, las triosas fosfato se convierten en almidón. En condiciones normales, aproximadamente el 30% del CO_2 que fijan las hojas se incorpora al almidón, que se almacena en gránulos insolubles en agua. Durante un período oscuro posterior, la mayor parte del almidón del cloroplasto se degrada y se convierte en sacarosa, que posteriormente se exporta a los órganos de almacenamiento y a los tejidos de crecimiento rápido. En estos tejidos (p. ej., tubérculos y semillas), la mayoría de las moléculas de sacarosa se emplean para sintetizar almidón, que se almacena principalmente dentro de un plástido especializado que se denomina *amiloplasto*.

Las triosas fosfato que se retienen en el cloroplasto se convierten en fructosa-6-fosfato por la aldolasa y la fructosa-1,6-bisfosfatasa. La glucosa-1-fosfato, el material de partida para la síntesis de almidón, se produce a partir de fructosa-6-fosfato por la fosfoglucoisomerasa y la fosfoglucomutasa. La conversión de la glucosa-1-fosfato en ADP-glucosa por la ADP-glucosa pirofosforilasa es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de almidón. La ADP-glucosa se incorpora al almidón por la almidón sintasa. Igual que la glucógeno sintasa (pág. 264), la almidón sintasa añade cada unidad de monosacárido a una cadena de polisacárido preexistente. La enzima ramificante introduce los puntos de ramificación $\alpha(1,6)$ de la amilopectina.

Diversas enzimas contribuyen a la degradación del almidón. Los enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ los rompen la α- y β-amilasa. La β-amilasa cataliza la eliminación sucesiva de unidades maltosa de los extremos no reductores de las cadenas de almidón. La α-glucosidasa degrada la maltosa para formar glucosa. La glucosa-1-fosfato es el producto cuando se rompen los enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ en los extremos no reductores mediante la fosforilasa del almidón. Los puntos de ramificación del almidón los elimina la enzima desramificante. Los productos de la digestión del almidón, la glucosa y la glucosa-1-fosfato se reconvierten posteriormente en triosas fosfato que se exportan al citoplasma. En las células fotosintetizadoras, la mayor parte de las triosas fosfato se convierten en sacarosa.

La sacarosa que se importa de las hojas es el sustrato de la mayor parte de la síntesis de almidón en las células que no realizan fotosíntesis. La sacarosa se convierte en fructosa y UDP-glucosa en una reacción reversible que cataliza la sacarosa sintasa. La fructosa se convierte posteriormente en glucosa-1-fosfato por la hexoquinasa y la fosfoglucomutasa. La UDP-glucosa se convierte en glucosa-1-fosfato por la UDP-glucosa pirofosforilasa. La conversión de sacarosa en dos moléculas de glucosa-1-fosfato es un proceso citoplásmico. Tras su transporte al amiloplasto, la glucosa-1-fosfato se utiliza en la síntesis de almidón. (Cantidades menores de los intermediarios glucolíticos gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato se transportan también a los amiloplastos y se utilizan en la síntesis de almidón.)

Metabolismo de la sacarosa

La sacarosa tiene varias funciones importantes en las plantas. En primer lugar, la sacarosa representa una gran parte del CO_2 que se absorbe durante la fotosíntesis. En segundo lugar, la mayoría del carbono que se distribuye por las plantas se encuentra en forma de sacarosa. Finalmente, en muchas plantas la sacarosa es una forma importante de almacenamiento de energía.

La sacarosa se sintetiza en el citoplasma. Tras su transporte desde los cloroplastos, las triosas fosfato se convierten en fructosa-1,6-bisfosfato y, posteriormente, en glucosa-6-fosfato, que luego se convierte en glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa. La UDP-glucosa (que se forma por la glucosa-1-fosfato uridiltransferasa a partir de glucosa-1-fosfato) y la fructosa-6-fosfato se combinan para formar sacarosa-6-fosfato, cuya síntesis la cataliza la sacarosa fosfato sintasa. La sacarosa fosfatasa cataliza la hidrólisis de la sacarosa-6-fosfato para formar sacarosa y P_i. La variación de energía libre de la última reacción ($\Delta G^{0\prime} = -18.4$ kJ/mol) garantiza que la producción de sacarosa continúa en los tejidos que almacenan sacarosa.

pendiendo de la gravedad de las circunstancias, puede perderse entre el 30 y el 50% del rendimiento de fijación de carbono de la planta. Este efecto puede ser serio, ya que varias plantas C3 (p. ej., la soja y la avena) son cultivos de alimentos importantes.

Se desconoce cuál es la finalidad de la fotorrespiración. Dado que las ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasas de todos los organismos fotosintetizadores investi-

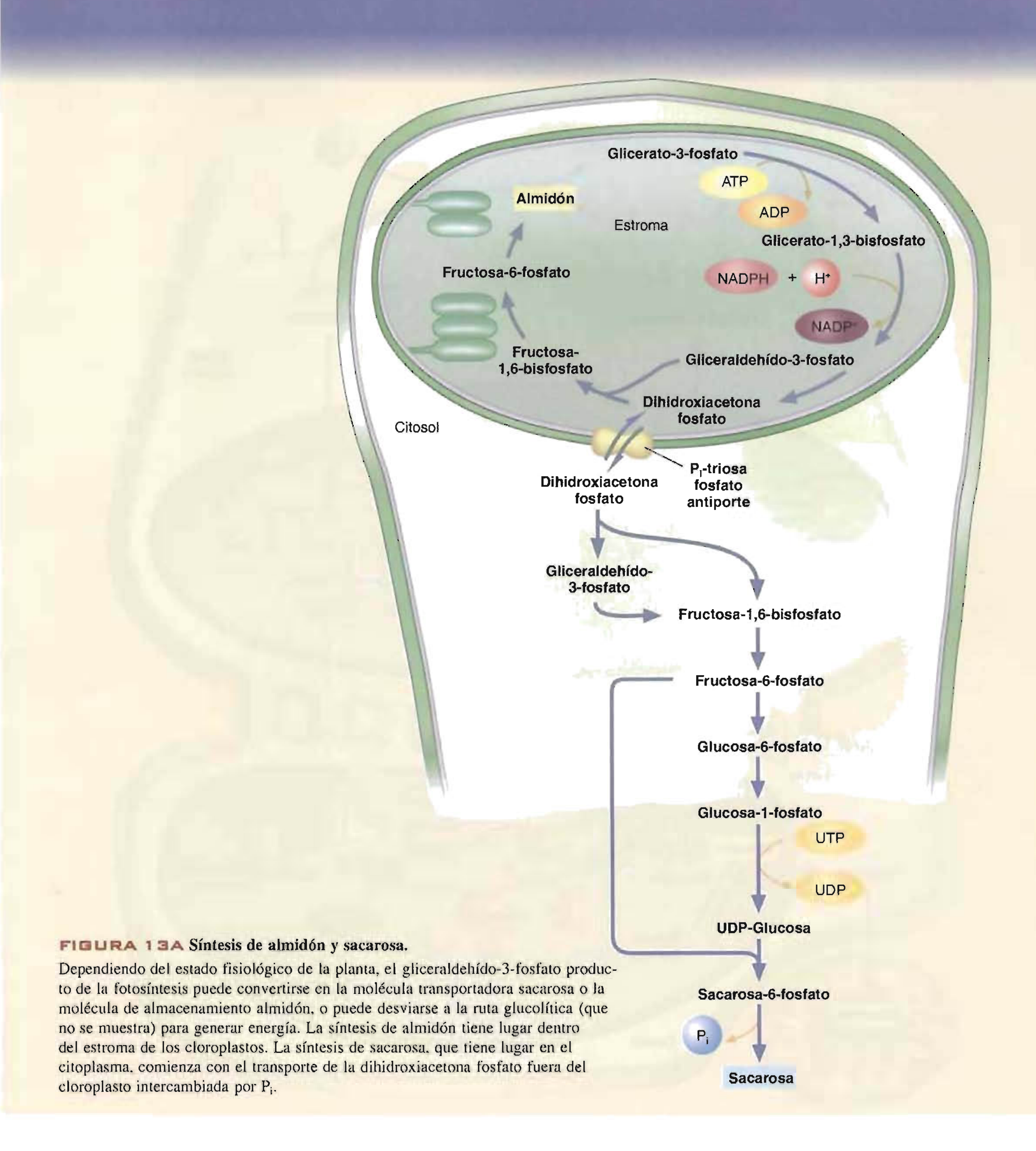


FIGURA 13A Síntesis de almidón y sacarosa.

Dependiendo del estado fisiológico de la planta, el gliceraldehído-3-fosfato producto de la fotosíntesis puede convertirse en la molécula transportadora sacarosa o la molécula de almacenamiento almidón, o puede desviarse a la ruta glucolítica (que no se muestra) para generar energía. La síntesis de almidón tiene lugar dentro del estroma de los cloroplastos. La síntesis de sacarosa, que tiene lugar en el citoplasma, comienza con el transporte de la dihidroxiacetona fosfato fuera del cloroplasto intercambiada por P_i.

gados poseen actividad oxigenasa, se cree que la estructura de la enzima puede hacer necesaria la fotorrespiración. No obstante, dos clases de plantas fotosintetizadoras, que colectivamente se denominan **plantas C4,** han creado mecanismos complejos para evitar la fotorrespiración. Estos mecanismos, que se llaman metabolismo C4 y metabolismo del ácido crasuláceo, se describen en el Recuadro de Interés Especial 13.2.

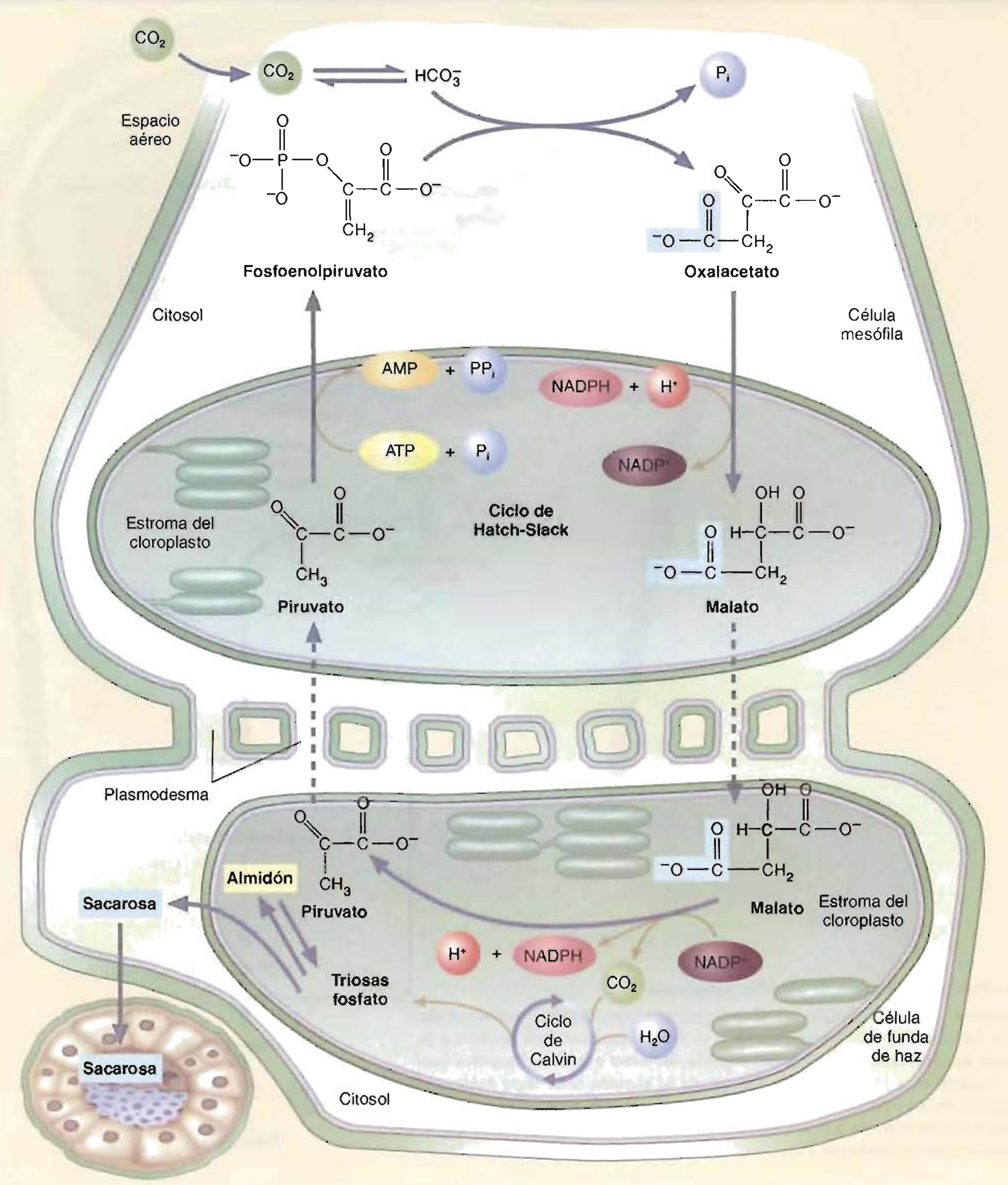


FIGURA 13B Metabolismo C4.

En la ruta C4, las células mesófilas que se encuentran en contacto directo con el espacio aéreo de la hoja, toman el CO_2 y lo emplean para sintetizar oxalacetato, que posteriormente se reduce a malato. (Algunas plantas C4 sintetizan aspartato en lugar de malato.) El malato difunde a continuación a las células de fundas de haces donde se reconvierte en piruvato. El CO_2 liberado en esta reacción se utiliza en el ciclo de Calvin, dando finalmente moléculas de triosas fosfato. Éstas a continuación se convierten en almidón o sacaosa. El piruvato vuelve a las células mesófilas.

Metabolismo C4

Las plantas C4 se encuentran principalmente en los trópicos y entre ellas están la caña de azúcar y el maíz. Se les ha dado el nombre de *plantas C4* debido a que una molécula de cuatro carbonos (oxalacetato) desempeña un papel destacado en una ruta bioquímica que evita la fotorrespiración. Esta ruta se denomina *ruta C4* o *ruta de Hatch-Slack* (por sus descubridores).

Las plantas C4 poseen en sus hojas dos clases de células fotosintetizadoras: células mesófilas y células de fundas de haces. (En las plantas C3, la fotosíntesis tiene lugar en las células mesófilas). La mayoría de las células mesófilas en ambas clases de plantas se encuentran en contacto directo con el aire cuando los estomas de las hojas están abiertos. En las plantas C4, el CO_2 se capta en células mesófilas especializadas que lo incorporan al oxalacetato (Fig. 13B) en una reacción que cataliza la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEP carboxilasa). A continuación, el oxalacetato se reduce a malato que tras formarse difunde a las células de fundas de haces. (Como implica su nombre, las células de fundas de haces forman una capa alrededor de los haces vasculares, que contienen líber y vasos leñosos.) Dentro de las células de fundas de haces, el malato se descarboxila a piruvato en una reacción que reduce el $NADP^+$ a NADPH. El piruvato producto de esta última reacción retorna por difusión a la célula mesófila, donde puede reconvertirse en PEP. Aunque esta reacción está impulsada por la hidrólisis de una molécula de ATP, hay un coste neto de dos moléculas de ATP, ya que se requiere una molécula adicional de ATP para convertir el AMP producto en ADP, de forma que pueda volver a fosforilarse durante la fotosíntesis. Este proceso en forma de circuito proporciona CO_2 y NADPH a los cloroplastos de las células de fundas de haces, donde la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa y las demás enzimas del ciclo de Calvin los utilizan para sintetizar triosas fosfato.

El **metabolismo C4** es importante debido a que asimila el CO_2 cuando es ventajoso para la planta. En ambientes muy cálidos, las plantas C4 abren sus estomas sólo por la noche tras descender la temperatura del aire, y es pequeño el riesgo de pérdida de agua. El CO_2 entra a través del estoma y se incorpora de forma inmediata al oxalacetato. A la mañana siguiente, cuando se dispone de luz para impulsar la fotosíntesis, el CO_2 liberado dentro de las células de fundas de haces se fija en moléculas de azúcar al proporcionar la fotosíntesis las cantidades adecuadas de ATP y NADPH para impulsar este proceso. Como la concentración de CO_2 dentro de las células de fundas de haces es significativamente mayor que la de O_2, virtualmente se elimina la fotorrespiración. Por consiguiente, la tasa neta de fotosíntesis en las plantas C4 puede ser al menos un tercio superior a la de las plantas C3. Los científicos agrarios están investigando la utilización de la ingeniería genética para introducir la ruta C4 en las plantas C3.

Metabolismo del ácido crasuláceo

El **metabolismo del ácido crasuláceo** (CAM) es otro mecanismo por medio del cual determinadas plantas evitan la fotorrespiración (Fig. 13C). Las plantas CAM, que mayoritariamente son suculentas (p. ej., cactus), crecen de forma característica en regiones de intensidad luminosa elevada y un aporte de agua muy limitado. (El nombre de CAM se debe a las Crasuláceas, el grupo de plantas en las que primero se investigó esta ruta.) Utilizan una estrategia semejante a la que emplean las plantas C4. Por la noche, cuando están abiertos sus estomas, el CO_2 se incorpora al oxalacetato mediante la PEP carboxilasa. Tras formarse el malato, se almacena en las vacuolas hasta que comienza la fotosíntesis la mañana siguiente, cuando se regenera el CO_2.

La diferencia más significativa entre el metabolismo C4 y el CAM es la forma en la que se separa la carboxilación del PEP del ciclo de Calvin. Recuerde que en el metabolismo C4 los dos procesos están separados espacialmente (es decir, se utilizan dos tipos de células). En el CAM, los procesos están separados temporalmente dentro de las células mesófilas. En otras palabras, durante las horas del día, se regenera el CO_2 a partir del malato que se sintetizó durante la noche.

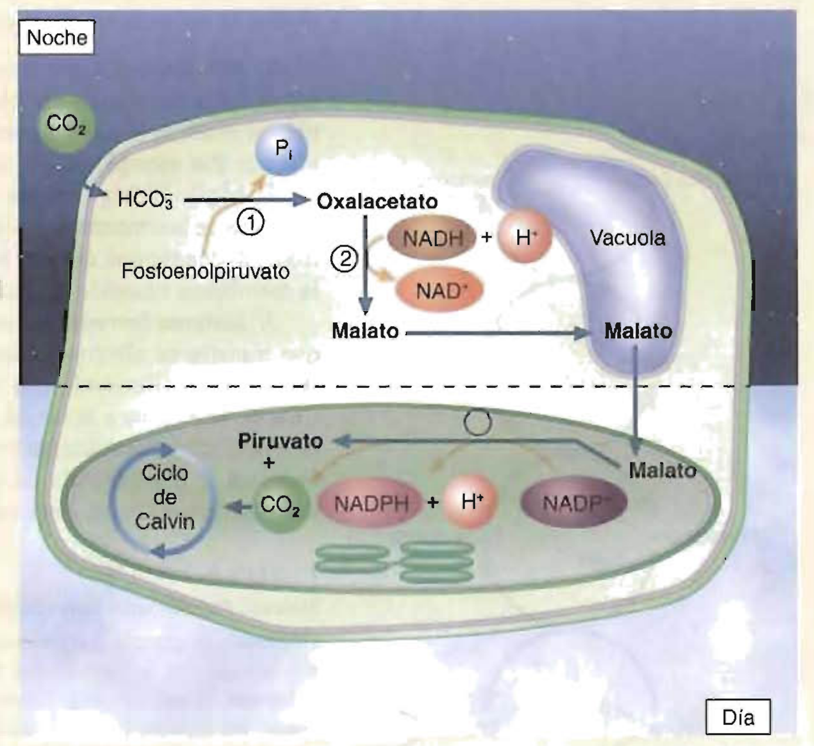


FIGURA 13C Metabolismo del ácido crasuláceo. Por la noche los estomas de las plantas CAM se abren para permitir la entrada de CO_2. Dentro de las células mesófilas la PEP carboxilasa (1) incorpora CO_2 (en forma de HCO_3^-) al oxalacetato. Posteriormente, el oxalacetato se reduce por la malato deshidrogenasa (2) para formar malato. Éste se almacena en las vacuolas de las células hasta la llegada del día. La luz estimula la descarboxilación del malato por la enzima málica (3) para formar piruvato y CO_2. Como resultado de esta separación temporal de las reacciones, el CO_2 puede incorporarse a moléculas de azúcar por el ciclo de Calvin durante el día, cuando los estomas de la planta están cerrados para evitar la pérdida de agua.

PREGUNTA 13.13 Explique brevemente el significado de la fotorrespiración y las estrategias que utilizan las plantas C4 y CAM para evitarla.

13.5 REGULACIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS

Dado que los vegetales pueden adaptarse a condiciones ambientales tan diferentes, la regulación de la fotosíntesis es compleja. Aunque el control de la mayoría de los procesos de la fotosíntesis está aún lejos de su conocimiento total, varias características de este control se encuentran bien establecidas. La mayoría de estos procesos están controlados directa o indirectamente por la luz. Tras una breve descripción de los efectos generales de la luz, se comenta el control de la actividad de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, la enzima reguladora clave de la fotosíntesis.

Control luminoso de la fotosíntesis

Las investigaciones de la fotosíntesis son complicadas por varios factores. El más destacado es que la tasa de fotosíntesis depende de la temperatura y de la concentración celular de CO_2, así como de la luz. No obstante, numerosas investigaciones han establecido de manera firme que la luz es un regulador importante de la mayoría de los aspectos de la fotosíntesis, lo cual no es sorprendente si se tiene en cuenta el papel de la luz para impulsar la fotosíntesis.

Muchos de los efectos de la luz sobre las plantas se producen por variaciones de la actividad de enzimas clave. Dado que las células vegetales poseen enzimas que actúan en varias rutas competitivas (es decir, glucólisis, ruta de las pentosas fosfato y ciclo de Calvin) es fundamental una cuidadosa regulación metabólica. La luz participa en la regulación activando diversas enzimas fotosintéticas y desactivando varias enzimas de las rutas de degradación. Entre las enzimas activadas por la luz se encuentran la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, la $NADP^+$-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, la fructosa-1,6-bisfosfatasa, la sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa y la fosforribuloquinasa. Entre las enzimas que inactiva la luz se encuentran la fosfofructoquinasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

La luz afecta a las enzimas mediante mecanismos indirectos. Entre los más estudiados se encuentran los siguientes:

1. pH. Recuerde que durante las reacciones luminosas, se bombean protones a través de la membrana tilacoide desde el estroma a la luz tilacoide. Al aumentar el pH del estroma desde 7 a aproximadamente 8, las actividades de varias enzimas se afectan. Por ejemplo, el pH óptimo de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa es 8.

2. Mg^{2+}. El Mg^{2+} activa varias enzimas de la fotosíntesis. La luz induce un aumento de la concentración de Mg^{2+} en el estroma desde 1-3 mM a alrededor de 3-6 mM. (Recuerde que durante las reacciones luminosas el Mg^{2+} se mueve a través de la membrana tilacoide hacia el estroma.)

3. Sistema ferredoxina-tiorredoxina. Las tiorredoxinas son proteína pequeñas que transfieren electrones desde la ferredoxina reducida a determinadas enzimas (Fig. 13-17). (Recuerde que la ferredoxina es un donador de electrones del PSI.) Cuando se expone a la luz, el PSI reduce la ferredoxina, que posteriormente reduce la ferredoxina-tiorredoxina reductasa (FTR), una proteína hierro-azufre que interviene en la transferencia de electrones entre la ferredoxina y la tiorredoxina. Las tiorredoxinas reducidas activan varias enzimas (p. ej., fructosa-1,6-bisfosfatasa, se-

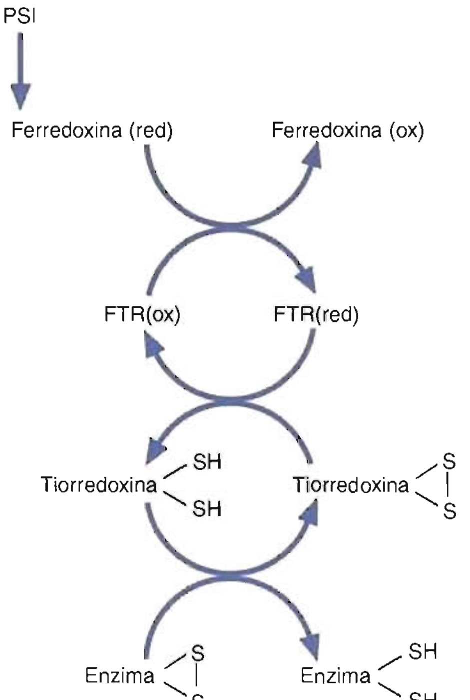


FIGURA 13-17
Sistema ferredoxina-tiorredoxina
Utilizando la energía luminosa capturada por el PSI, los electrones energetizados se ceden a la ferredoxina. Los electrones que cede la ferredoxina a la FTR (ferredoxina-tiorredoxina reductasa) se utilizan para reducir el enlace disulfuro de la tiorredoxina. Ésta posteriormente reduce los enlaces disulfuro de enzimas susceptibles. Algunas enzimas se activan por este proceso, mientras que otras se inactivan.

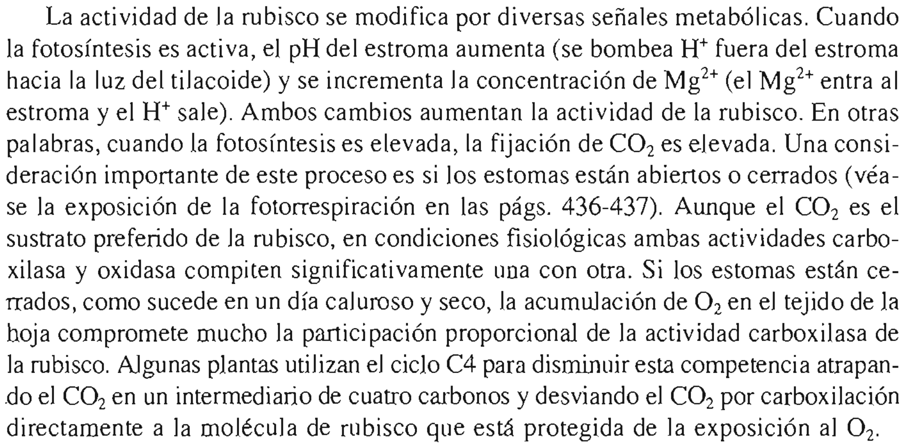
doheptulosa-1,7-bisfosfatasa y fosforribuloquinasa) e inactiva otras (p. ej., NADP$^+$-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa).

4. Fitocromo. El fitocromo es una proteína de 120 kD que posee un cromóforo (Fig. 13-18). El fitocromo se presenta en dos formas: P_r y P_{fr}. P_r, la forma azul inactiva, absorbe luz roja (670 nm). La absorción de longitudes de onda mayores (720 nm) (es decir, luz roja lejana) convierte el P_r en P_{fr}, la forma verde activa. (En la oscuridad, P_{fr} vuelve a P_r.) El fitocromo aparentemente intermedia centenares de respuestas de la planta a la luz, muchas de las cuales se inician por cambios de la concentración intracelular de Ca^{2+}. Entre los procesos en los que interviene el fitocromo se encuentran la germinación de las semillas, el alargamiento de las raíces, la floración y la diferenciación de los cloroplastos a partir de los proplástidos. (Varios de estos procesos también se estimulan por hormonas vegetales específicas.) El fitocromo tiene efectos específicos sobre los procesos fotosintéticos, entre los que se encuentran el control de la síntesis de la subunidad pequeña de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa y la disposición de los cloroplastos dentro de las células fotosintetizadoras.

Control de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa



Los genes que codifican la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa (rubisco) se encuentran en el cloroplasto (subunidad L) y el núcleo (subunidad S). La activación de estos genes se produce por un aumento de la intensidad de la luz (iluminación). El fitocromo parece actuar también en este proceso de activación. Una vez que se ha transportado la subunidad S desde el citoplasma al cloroplasto, ambas subunidades se unen para formar la holoenzima L_8S_8. Una proteína que se denomina *proteína de unión de la subunidad grande* parece colaborar en el ensamblado de la holoenzima. Cuando la iluminación es baja, la síntesis de ambas subunidades disminuye rápidamente.



La actividad de la rubisco se modifica por diversas señales metabólicas. Cuando la fotosíntesis es activa, el pH del estroma aumenta (se bombea H^+ fuera del estroma hacia la luz del tilacoide) y se incrementa la concentración de Mg^{2+} (el Mg^{2+} entra al estroma y el H^+ sale). Ambos cambios aumentan la actividad de la rubisco. En otras palabras, cuando la fotosíntesis es elevada, la fijación de CO_2 es elevada. Una consideración importante de este proceso es si los estomas están abiertos o cerrados (véase la exposición de la fotorrespiración en las págs. 436-437). Aunque el CO_2 es el sustrato preferido de la rubisco, en condiciones fisiológicas ambas actividades carboxilasa y oxidasa compiten significativamente una con otra. Si los estomas están cerrados, como sucede en un día caluroso y seco, la acumulación de O_2 en el tejido de la hoja compromete mucho la participación proporcional de la actividad carboxilasa de la rubisco. Algunas plantas utilizan el ciclo C4 para disminuir esta competencia atrapando el CO_2 en un intermediario de cuatro carbonos y desviando el CO_2 por carboxilación directamente a la molécula de rubisco que está protegida de la exposición al O_2.

La rubisco se modifica de forma covalente como medio de regulación. El lugar activo de la subunidad L para activarse debe carbamoilarse en un residuo específico

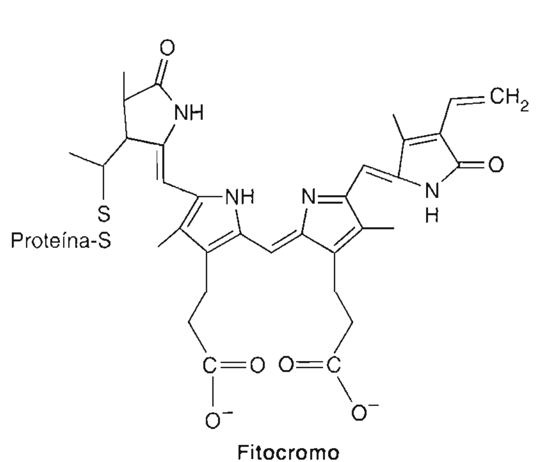


FIGURA 13-18
Fitocromo.
La absorción de luz cambia la disposición de los dobles enlaces conjugados de la molécula.

de lisina. La carbamoilación es la carboxilación no enzimática de un grupo amino primario libre, en este caso el grupo ε-amino de una lisina determinada del lugar activo de la rubisco. La tasa de carbamoilación depende de la concentración de CO_2 y de un pH alcalino. La ribulosa-1,5-bisfosfato puede unirse al lugar activo, tanto en su forma modificada como en la no modificada, pero la catálisis sólo puede tener lugar cuando está carbamoilada la rubisco. El nivel de activación es cooperativo y aumenta cuantas más subunidades de las ocho estén modificadas. Una proteína específica que se denomina rubisco activasa actúa de mediadora en la liberación de la ribulosa-1,5-bisfosfato del lugar activo dependiente del ATP, de forma que tras la activación enzimática puede tener lugar la carbamoilación. En la oscuridad, la fotosíntesis está disminuida y el ATP que se requiere para este proceso de activación está muy reducido igual que lo está el NADPH que se requiere para el ciclo de Calvin. En la oscuridad, algunas plantas forman el análogo del sustrato carboxiarabinitol-1-fosfato (CA1P), que se utiliza como inhibidor competitivo eficaz de la activación de la rubisco. (Un análogo del sustrato es una molécula que tiene una estructura semejante al intermediario del estado de transición de la enzima, pero sobre el que no puede actuar la enzima de forma catalítica.) Cuando el análogo del sustrato está unido al lugar activo de la rubisco, la rubisco activasa no puede desalojarlo.

D-Carboxiarabinitol-1-fosfato

Estado de transición de la rubisco

Este mecanismo regulador garantiza que la fijación de CO_2 sólo tiene lugar en una tasa apreciable cuando se elevan la concentración de CO_2 y la energía disponible.

La enzima fructosa-1,6-bisfosfato fosfatasa es más activa en las plantas durante el día debido a que la luz aumenta el pH y la concentración de Mg^{2+}. Sobre la enzima actúa también el sistema ferredoxina-tiorredoxina (activo durante la fotosíntesis) para producir la forma tiol libre activa (reducida) de la enzima. Otras enzimas que participan en el ciclo de Calvin y el metabolismo de los hidratos de carbono también están reguladas por mecanismos que dependen de la luz (p. ej., fosforribuloquinasa, sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa). De esta forma, están reguladas de forma coordinada las actividades interdependientes de la fotosíntesis, la fijación de CO_2 y la síntesis de sacarosa.

Al considerar lo que se ha presentado sobre el control de la fotosíntesis es evidente que los sistemas de control metabólico de las plantas son extraordinariamente sofisticados. A pesar de una intensa investigación quedan aún por elucidar muchos aspectos del control del funcionamiento de las plantas. Este comportamiento es muy importante, ya que un conocimiento profundo de la producción fotosintética es esencial para mejorar los rendimientos de las cosechas y obtener en el futuro nuevos recursos de las plantas.

A pesar de la complejidad de la fotosíntesis, se conocen ya muchos aspectos de este proceso que mantiene la vida. Las tecnologías cuyo uso ha contribuido (y continúa contribuyendo) a estos esfuerzos investigadores son la espectroscopia, la fotoquímica, la cristalografía de rayos X y los trazadores radiactivos. En Métodos Bioquímicos 13.1 se presentan brevemente los principios de estas tecnologías y se dan ejemplos de su utilización.

CONCEPTOS CLAVE 13.6

La luz es el principal regulador de la fotosíntesis. La luz afecta a las actividades de enzimas reguladoras en los procesos fotosintetizadores mediante mecanismos indirectos, que incluyen cambios de pH, de la concentración de Mg^{2+}, del sistema ferredoxina-tiorredoxina y del fitocromo.

Estudios de la fotosíntesis

La mayoría de las tecnologías que se utilizan en la investigación bioquímica tienen diversas aplicaciones. Esto es cierto para las técnicas siguientes que se utilizan en la investigación sobre la fotosíntesis.

Espectroscopia

La espectroscopia mide la absorción de la radiación electromagnética por las moléculas. Los instrumentos que miden esta absorción, que se denominan espectrofotómetros, pueden realizar las medidas en un intervalo amplio de frecuencias. Se denomina **espectro de absorción** a la gráfica de la absorción de radiación electromagnética por una muestra.

En la investigación sobre la fotosíntesis, se ha medido la absorbancia relativa de la radiación por diversos componentes de la planta para determinar su contribución a la recogida de la luz. Este trabajo ha descubierto que la mayor parte de la absorbancia de la luz la realizan las clorofilas y los carotenoides. En la Figura 13D se presentan los espectros de absorción de diversos pigmentos de las plantas. Como se esperaba, las clorofilas absorben poca luz entre 500 y 699 nm (luz verde y amarillo-verdosa). Absorben fuertemente entre 400 y 500 nm (luz violeta y azul) y entre 600 y 700 nm (luz naranja y roja).

Cuando se mide el efecto de la longitud de onda sobre la tasa de fotosíntesis se genera un **espectro de acción**. Observe en la Figura 13D que el espectro de acción de una hoja típica sugiere que la fotosíntesis a longitudes de onda específicas (p. ej., 650 nm y 680 nm) utiliza la luz absorbida por las clorofilas a y b, respectivamente. Las hojas intactas absorben la luz más eficazmente que los pigmentos puros porque en las hojas intactas las longitudes de onda que no se absorben se reflejan de cloroplasto a cloroplasto. Cada vez que se produce una reflexión interna, se absorbe un pequeño porcentaje de la longitud de onda reflejada. Finalmente, se absorbe un porcentaje significativo de las longitudes de onda que golpean la hoja.

En los años 1950, Robert Emerson utilizó una versión más precisa del espectro de acción para investigar la fotosíntesis. Cuando medía el número de moléculas de oxígeno que se producían por cuanto de luz absorbida en el espectro visible, observó que la luz con las longitudes de onda superiores a 690 nm eran ineficaces para estimular la fotosíntesis. Sin embargo, si se utilizaba luz azul además de la roja la tasa de fotosíntesis (es decir, la tasa de formación de O_2) aumentaba significativamente. Este fenómeno, que se denomina **efecto de potenciación de Emerson**, se utilizó posteriormente para apoyar la teoría de los dos fotosistemas independientes (PSI y PSII).

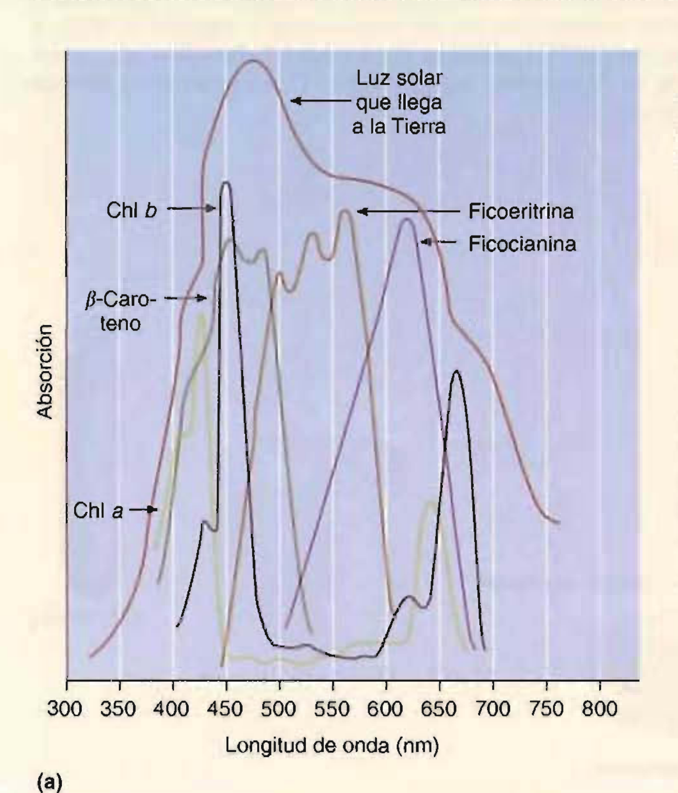
Otra clase de espectroscopia se denomina **espectroscopia de resonancia de espín electrónico (ESR)**. En las moléculas que poseen electrones desapareados, puede medirse la energía de estos electrones en un campo magnético que varía de forma rápida. Debido a que cada electrón genera su propio campo magnético, se orienta a favor o en contra de un campo externo. (Los electrones están siempre afectados por sus entornos moleculares.) El espectro ESR es una medida de la diferencia entre estos dos niveles energéticos. Aunque la ESR es una técnica valiosa en muchas áreas de la bioquímica, ha sido especialmente útil en la investigación de la fotosíntesis. Por ejemplo, la ESR desempeñó un papel importante en la determinación de que el componente que absorbe el fotón en los centros de reacción fotosintéticos es un par de moléculas de clorofila.

Fotoquímica

La **fotoquímica** es el estudio de las reacciones químicas que se inician por la absorción de luz. Durante las reacciones fotoquímicas, los enlaces químicos pueden romperse cuando se forman iones o radicales. Las moléculas excitadas se pueden también isomerizar o convertir en oxidantes. Varias técnicas analizan los fenómenos fotoquímicos. Éstas miden la formación de producto o la emisión de fluorescencia o fosforescencia.

Uno de los usos más notables de la fotoquímica en la investigación de la fotosíntesis fue un estudio que dio lugar al descubrimiento

(continúa en la página 446)



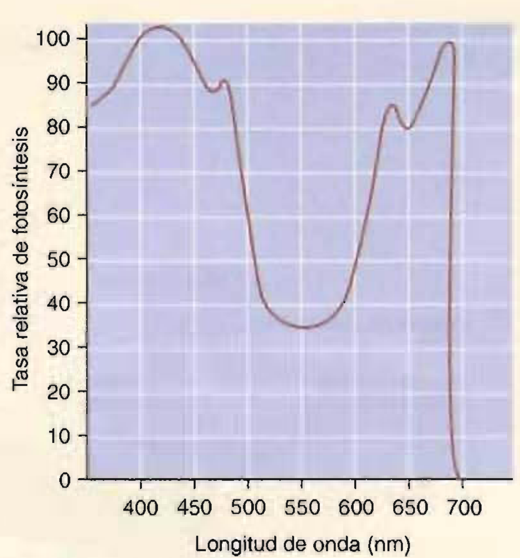


FIGURA 13D Medidas de absorción de luz en la investigación de la fotosíntesis.

(a) Espectro de absorción de la luz visible por los fotopigmentos. (b) Esp ectro de acción.

del reloj de oxidación de agua (Véase la Fig. 13-12, pág. 430). Pierre Joliot y Bessel Kok estudiaron el PSII midiendo la formación de O_2 cuando se exponían cloroplastos de algas a breves destellos de luz tras un período de oscuridad. (Más recientemente, se han repetido estos experimentos utilizando vesículas membranosas en las que se habían insertado centros de reacción PSII.) En 1969, Joliot encontró que no se liberaba O_2 con el primero y segundo destellos. Se produce entonces un estallido de formación de O_2 con el tercer destello. La formación posterior de O_2 sigue un patrón oscilante, con una cantidad máxima que se produce cada cuarto destello. En 1970, Kok sugirió que el complejo que forma oxígeno del PSII se encuentra en cinco estados de oxidación transitorios, S_0 a S_4. Tras el primer destello, el P680 se convierte en P680*. El reloj, que proporciona los electrones que reconvierten el P680* en P680, libera O_2 cuando se ha alcanzado el estado S_4. Actualmente se cree que el primer estallido de O_2 se produce en el tercer destello debido a que durante un período de oscuridad el centro de reacción se relaja a S_1 en lugar de a S_0. A continuación, los picos de formación se producen cada cuarto destello. La amortiguación de las oscilaciones se produce debido a las ineficacias aleatorias de absorción de luz por el gran número de complejos de fotosistemas que se están midiendo.

Cristalografía de rayos X

Aunque la cristalografía de rayos X ha sido una herramienta valiosa para determinar las estructuras moleculares (Métodos Bioquímicos 5.1), tiene una utilidad limitada debido a que los investigadores no pueden utilizar las moléculas hidrófobas. Como muchos componentes fotosintéticos importantes se encuentran en las membranas, esta técnica no ha sido útil en la investigación de la fotosíntesis. Sin embargo, se han utilizado recientemente pequeñas moléculas orgánicas anfipáticas durante la extracción y purificación de las proteínas de membrana, un proceso que se denomina cocristalización. Utilizando esta técnica se han determinado las estructuras de los centros de reacción de las rodopseudomónadas (un grupo de bacterias purpúreas no sulfurosas). La información estructural de la cristalografía de rayos X combinada con el conocimiento obtenido con la espectroscopia ha proporcionado una visión coherente del transporte electrónico fotosintético.

Trazadores radiactivos

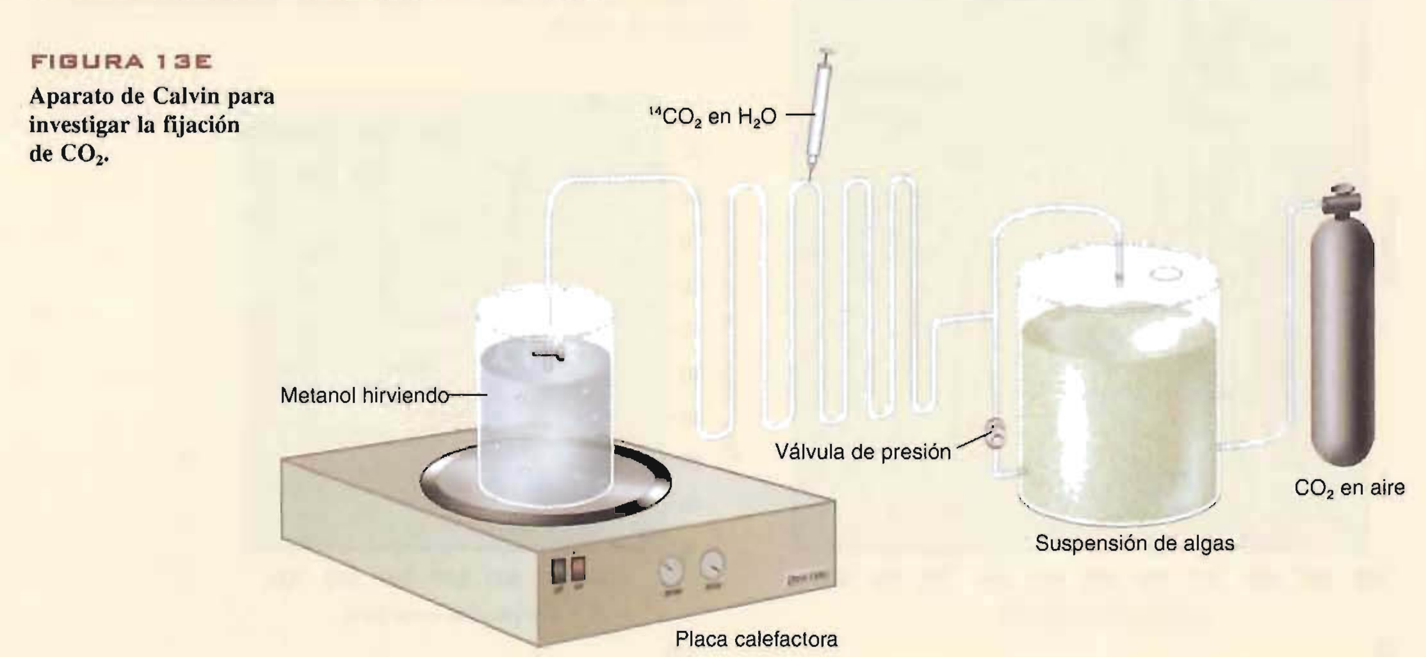
El trazado de las rutas bioquímicas específicas puede ser frustrante debido a que se producen simultáneamente en los seres vivos numerosas rutas de reacción. Sin embargo, si se pueden marcar las biomoléculas con un trazador (una sustancia cuya presencia puede detectarse), se hace más fácil la investigación de las rutas de reacción. Los isótopos radiactivos han sido muy valiosos para trazar el destino metabólico de las moléculas marcadas.

El núcleo de un isótopo radiactivo es inestable, es decir, se desintegra para formar un núcleo más estable. Este proceso puede seguirse mediante el uso de instrumentos que miden las emisiones radiactivas, como los contadores Geiger y los contadores de centelleo, o mediante autorradiografía (Métodos Bioquímicos 2.1).

Uno de los primeros trazadores radiactivos fue el ^{14}C, que utilizó Melvin Calvin y sus colaboradores en los años 1950 en la investigación de la fijación del carbono en las algas. Para determinar la ruta mediante la cual se incorpora el CO_2 en los hidratos de carbono, el equipo de Calvin diseñó un aparato ingenioso (Fig. 13E). El marcaje de los intermediarios de la reacción está limitado en las primeras fases de la ruta de fijación del carbono. Se burbujea CO_2 en un recipiente transparente que contiene una suspensión del alga *Chlorella*. Tras iluminar el recipiente y avanzar la fotosíntesis, se abre una llave y se deja que las algas fluyan a través de un tubo de vidrio estrecho dentro de un vaso con metanol hirviendo. (Una vez que las algas penetran en el metanol hirviendo, se destruyen, y se detiene su metabolismo.) Se puede introducir $^{14}CO_2$ en puntos específicos a lo largo del tubo. La exposición de las algas al ^{14}C puede pues medirse de manera precisa. La fotosíntesis continúa al fluir las algas en el tubo, y el procesamiento por el organismo del carbono marcado continúa hasta que las células se destruyen en el metanol. El equipo de Calvin analizó el extracto alcohólico mediante cromatografía en papel y autorradiografía. Determinaron la ruta por medio de la cual se asimila el carbono en las algas variando el tiempo de exposición. Por ejemplo, el equipo encontró que, tras una exposición de 5 segundos al $^{14}CO_2$, la mayoría del ^{14}C aparecía en el glicerato-3-fosfato. Tras una exposición de 30 segundos, la mayoría del ^{14}C se encontraba en hexosas fosfato.

FIGURA 13E

Aparato de Calvin para investigar la fijación de CO_2.



RESUMEN

1. En las plantas, la fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos, estructuras que poseen tres membranas. La membrana externa es muy permeable, mientras que la membrana interna posee diversas moléculas transportadoras que regulan el tráfico molecular dentro y fuera del cloroplasto. Una tercera membrana, que se denomina membrana tilacoide, forma un conjunto intrincado de vesículas aplanadas que se denomina grana.
2. La fotosíntesis consta de dos fases principales: las reacciones luminosas y las reacciones independientes de la luz. Durante las reacciones luminosas, el agua se oxida, se forma O_2 y se producen el ATP y el NADPH que se requieren para impulsar la fijación del carbono. Las principales unidades de trabajo de las reacciones luminosas son los fotosistemas I y II, el complejo citocromo b_6f y la ATP sintasa. Durante las reacciones independientes de la luz, el CO_2 se incorpora a las moléculas orgánicas. El primer producto estable de la fijación del carbono es el glicerato-3-fosfato. El ciclo de Calvin está formado por tres fases: fijación del carbono, reducción y regeneración.
3. La mayor parte del carbono que se incorpora durante el ciclo de Calvin inicialmente se utiliza para sintetizar almidón y sacarosa, ambas fuentes importantes de energía. La sacarosa también es importante porque se utiliza para llevar el carbono fijado por toda la planta.
4. La fotorrespiración es un proceso en el que las plantas consumen O_2 y liberan CO_2. No se comprende bien cuál es su función en el metabolismo vegetal, ya que aparentemente es un proceso derrochador. Las plantas C4 y las plantas CAM, que crecen en ambientes relativamente estrictos, han creado mecanismos anatómicos y bioquímicos para evitar la fotorrespiración.
5. Dado que las plantas deben adaptarse a condiciones ambientales cambiantes, la regulación de la fotosíntesis es compleja. En la actualidad están bien establecidas diversas características estructurales de este control. La luz es un regulador importante de la mayoría de los aspectos de la fotosíntesis. Muchos de los efectos de la luz se producen por medio de los cambios de las actividades de enzimas clave. Los mecanismos por los que la luz afecta a estos cambios son los cambios de pH, de concentración de Mg^{2+}, el sistema ferredoxina-tiorredoxina y el fitocromo. La enzima más importante de la fotosíntesis es la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa. Su actividad está regulada por la luz. Ésta activa la síntesis de ambos tipos de subunidades de la enzima. Además, su actividad está afectada por efectores alostéricos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Allen, J. F., and Forsberg, J., Molecular Recognition in Thylakoid Structure and Function, *Trends Plant Sci.*, 6(7):317-326, 2001.

Barber, J., and Andersson, B., Too Much of a Good Thing: Light Can Be Bad for Photosynthesis, *Trends Biochem. Sci.*, 17:61-66, 1992.

Blankenship, R. E., and Hartmann, H., The Origin and Evolution of Oxygenic Photosynthesis, *Trends Biochem. Sci.*, 23:94-97, 1998.

Furuya, M., and Schafer, E., Photoperception and Signalling of Induction Reactions by Different Phytochromes, *Trends Plant Sci.*, 1(9):301-307, 1996.

Govindjee, and Coleman, W. J., How Plants Make Oxygen, *Sci. Amer.*, 262:50-58, 1990.

Hoganson, C. W., and Babcock, G. T., A Metalloradical Mechanism for the Generation of Oxigen from Water in Photosynthesis, *Science*, 277:1953-1956, 1997.

Huber, R., A Structural Basis of Light Energy and Electron Transfer in Biology, *Eur. J. Biochem.* 187:283-305, 1990.

Prince, R. C., Photosynthesis: The Z-Scheme Revised, *Trends Biochem. Sci.*, 21(4):121-122, 1996.

Rogner, M., Boekema, E. J., and Barber, J., How Does Photosystem 2 Split Water? The Structural Basis of Efficient Energy Conversion, *Trends Biochem. Sci.*, 21(2):44-49, 1996.

Szalai, V. A., and Brudvig, G. W., How Plants Produce Dioxygen, *Amer. Sci.*, 86:342-351, 1998.

Youvan, D. C., and Marrs, B. L., Molecular Mechanism of Photosynthesis, *Sci. Amer.*, 256(6):42-48, 1987.

PALABRAS CLAVE

PREGUNTAS DE REVISIÓN

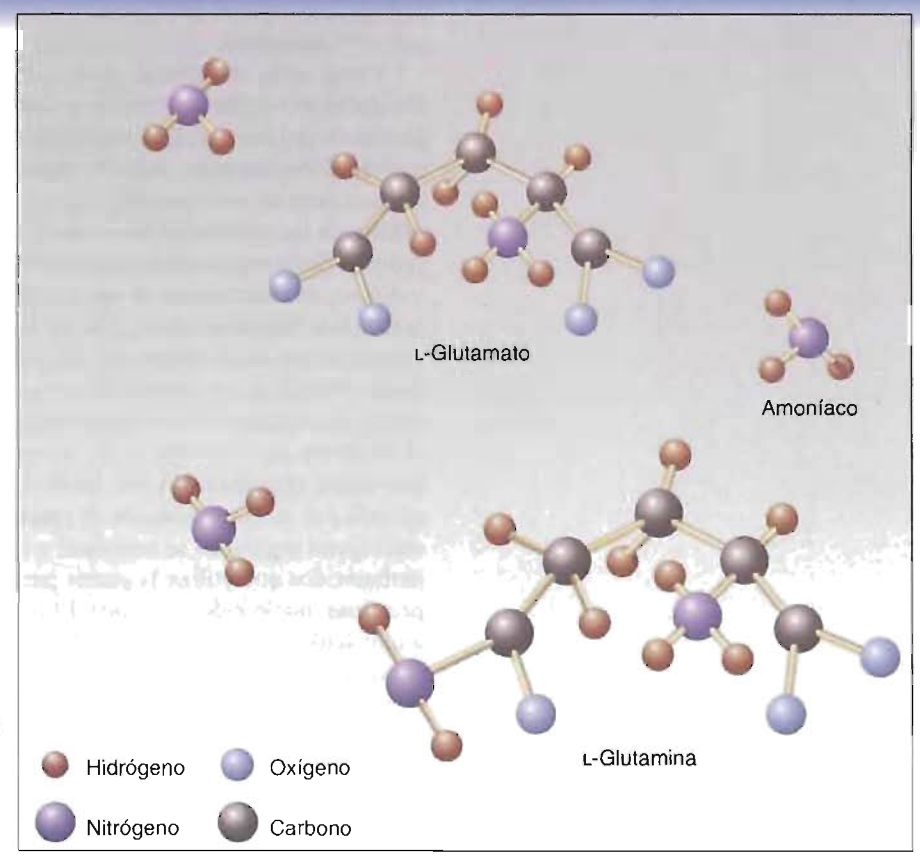
1. Defina los términos siguientes:
   a. fotosistema
   b. centro de reacción
   c. reacción luminosa
   d. reacción oscura
   e. cloroplasto
   f. fotorrespiración
2. ¿Cuál fue la contribución más significativa de los primeros organismos fotosintetizadores sobre el ambiente de la Tierra?
3. Relacione tres pigmentos fotosintéticos primarios y describa la función que desempeña cada uno de ellos en la fotosíntesis.
4. Relacione cinco semejanzas entre cloroplastos y mitocondrias.
5. Las moléculas excitadas pueden volver al estado basal mediante varios medios. Describa brevemente cada uno. ¿Cuáles de estos procesos son importantes en la fotosíntesis? Describa cómo funcionan en los seres vivos.
6. ¿Cuál es el aceptor electrónico final en la fotosíntesis?
7. ¿Qué reacciones tienen lugar durante las reacciones luminosas de la fotosíntesis?
8. ¿Qué reacciones tienen lugar durante las reacciones independientes de la luz de la fotosíntesis?
9. ¿Cuál es el sistema que forma O_2 al que se denomina reloj?
10. Si se representa la tasa de fotosíntesis frente a la longitud de onda de la luz incidente, se obtiene un espectro de acción. ¿Cómo proporciona información el espectro de acción sobre la naturaleza de los pigmentos que absorben luz que participan en la fotosíntesis?
11. Utilizando el espectro de acción de la fotosíntesis de la pág. 445 determine la longitud de onda que parece ser óptima para la fotosíntesis.
12. ¿Cuál es el efecto de potenciación de Emerson? ¿Cómo se utilizó para demostrar la existencia de dos fotosistemas diferentes? (*Pista*: Vea Métodos Bioquímicos 13.1).
13. Relacione los tipos de metales que son componentes del mecanismo de fotosíntesis. ¿Qué funciones realizan?
14. Explique la observación siguiente. Cuando un sistema fotosintetizador se expone a un breve destello de luz, no se forma oxígeno. Sólo se forma oxígeno tras varios estallidos de luz.
15. ¿Cuál es el esquema Z de la fotosíntesis? ¿Cómo se utilizan los productos de esta reacción para fijar el dióxido de carbono?
16. ¿Dónde tiene lugar en la célula la fijación del dióxido de carbono?
17. El cloroplasto tiene una estructura muy organizada. ¿Cómo ayuda esta estructura a hacer posible la fotosíntesis?

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Sin dióxido de carbono la clorofila produce fluorescencia. ¿ Cómo impide el dióxido de carbono esta fluorescencia?
2. Se ha realizado la afirmación de que cuanto más conjugado se encuentra un cromóforo, menos energía necesita un fotón para excitarlo. ¿Qué es la conjugación y cómo contribuye a este fenómeno?
3. Al aumentar la intensidad de la luz incidente, aunque no su energía, aumenta la tasa de fotosíntesis. ¿Por qué es esto así?
4. Tanto la fosforilación oxidativa como la fotofosforilación atrapan la energía en enlaces de energía elevada. ¿En qué se diferencian estos procesos? ¿En qué se parecen?
5. En las plantas C3, las concentraciones elevadas de oxígeno inhiben la fotosíntesis. ¿Por qué es esto así?
6. Generalmente, al aumentar la concentración de dióxido de carbono aumenta la tasa de fotosíntesis. ¿Qué condiciones pueden impedir este efecto?
7. Se ha sugerido que los cloroplastos, como las mitocondrias, han evolucionado a partir de los seres vivos. ¿Qué características de los cloroplastos sugieren que esto es cierto?
8. Explique por qué la fotorrespiración está inhibida por las concentraciones elevadas de dióxido de carbono.
9. ¿Por qué la exposición de las plantas C3 a temperaturas elevadas aumenta el punto de compensación del dióxido de carbono?
10. Determinados herbicidas actúan estimulando la fotorrespiración. Estos herbicidas son letales para las plantas C3 pero no afectan a las plantas C4. ¿Por qué es esto así?
11. El maíz, el cereal de mayor importancia económica, es una planta
   ˜§ñ.×|
   efecto se produce si estos materiales no se degradan antes de diluirse en el océano?

CAPÍTULO CATORCE

Metabolismo del nitrógeno I: Síntesis



Metabolitos del nitrógeno. El glutamato, la glutamina y el amoniaco se encuentran entre las moléculas más importantes del metabolismo del nitrógeno.

SUMARIO

El nitrógeno es un elemento esencial que se encuentra en las proteínas, los ácidos nucleicos y otra miríada de biomoléculas. A pesar del importante papel que desempeña en los seres vivos, es escaso el nitrógeno biológicamente útil. Aunque el gas nitrógeno (N_2) es muy abundante en la atmósfera, es casi químicamente inerte. Por lo tanto, la conversión del N_2 en una forma útil requiere un gasto importante de energía. Sólo unos pocos organismos pueden realizar esta función, que se denomina fijación del nitrógeno. Determinados microorganismos (todos ellos bacterias o cianobacterias) pueden reducir el N_2 para formar NH_3 (amoníaco). Los vegetales y los microorganismos pueden absorber el NH_3 y el NO_3^- (nitrato), el producto de oxidación del amoníaco. Ambas moléculas se utilizan posteriormente para sintetizar biomoléculas nitrogenadas. (La conversión del NH_3 en NO_3^-, en un proceso que se denomina nitrificación, lo realizan también determinados microorganismos.) Los animales no pueden sintetizar las moléculas nitrogenadas que requieren a partir del NH_3 y del NO_3^- y deben

adquirir «nitrógeno orgánico», principalmente aminoácidos, a partir de las fuentes alimentarias (es decir, vegetales y animales herbívoros). En un conjunto complejo de rutas de reacción, los animales utilizan posteriormente el nitrógeno de los aminoácidos para sintetizar metabolitos importantes. El Capítulo 14 describe la síntesis de las principales moléculas nitrogenadas (p. ej., aminoácidos y nucleótidos) y una pequeña selección de moléculas que representan la rica diversidad de metabolitos que contienen este elemento de importancia fundamental.

El nitrógeno se encuentra es una enorme cantidad de biomoléculas. Entre los ejemplos de los principales metabolitos nitrogenados se incluyen los aminoácidos, las bases nitrogenadas, las porfirinas y varios lípidos. Además, son también de una importancia fundamental en el metabolismo de muchos eucariotas otros compuestos nitrogenados que se requieren en cantidades más pequeñas (p. ej., la aminas biógenas y el glutatión).

Como se ha mencionado antes (véase la pág. 6), la incorporación del nitrógeno a las moléculas orgánicas comienza con la fijación (reducción) del N_2 por los microorganismos procariotas. Los organismos que fijan nitrógeno se encuentran en muchos entornos. Por ejemplo, algunos organismos viven en relaciones simbióticas dentro de las raíces de determinadas plantas (p. ej., *Rhizobium* se encuentra dentro de las células de los nódulos de las raíces de determinadas plantas como los guisantes y las judías). Otros organismos fijadores de nitrógeno se encuentran en las aguas marinas y dulces, en manantiales de aguas termales o en los intestinos de determinados animales. Los vegetales como el maíz dependen de la absorción de NH_3 y NO_3^- que se sintetizan por las bacterias del suelo o que se suministran en los fertilizantes artificiales. Debido a que normalmente las plantas disponen de poco nitrógeno fijado, el aporte de nitrógeno es con frecuencia el factor limitante del crecimiento y desarrollo de la planta. Sea como sea la forma en que las plantas adquieren NH_3, por fijación de nitrógeno, por absorción del suelo o por reducción del NO_3^- absorbido, el NH_3 se asimila por su conversión en el grupo amida de la glutamina. Posteriormente, este «nitrógeno orgánico» se transfiere a otros compuestos carbonados para producir los aminoácidos que utiliza la planta para sintetizar las moléculas nitrogenadas (p. ej., proteínas, nucleótidos y hemo). El nitrógeno orgánico, principalmente en forma de aminoácidos, fluye luego por todo el ecosistema cuando los animales y los microorganismos de descomposición consumen las plantas. El complejo proceso que transfiere el nitrógeno por el mundo vivo se denomina *ciclo del nitrógeno.*

Los organismos distintos de los vegetales varían en su capacidad para sintetizar los aminoácidos a partir de intermediarios metabólicos y del nitrógeno fijado. Por ejemplo, muchos microorganismos pueden producir todos los aminoácidos que necesitan. Por el contrario, los animales sólo pueden sintetizar alrededor de la mitad de los aminoácidos que requieren. Los **aminoácidos no esenciales (ANE)** se sintetizan a partir de metabolitos de fácil disponibilidad. Los aminoácidos que han de proporcionarse en el alimento para garantizar un equilibrio nitrogenado y un crecimiento adecuado se denominan **aminoácidos esenciales (AE)**.

Tras digerirse en el tubo digestivo las proteínas del alimento, los aminoácidos libres se transportan a la sangre a través de las células de la mucosa intestinal. Debido a que la mayoría de las alimentaciones no proporcionan los aminoácidos en las proporciones que requiere el cuerpo, sus concentraciones deben ajustarse mediante mecanismos metabólicos. Los aminoácidos que se liberan a la sangre en el intestino ya exhiben algunas variaciones de sus concentraciones relativas. Por ejemplo, la concentración de alanina es mayor y la concentración de glutamato menor que la que se encuentra en las proteínas antes de digerirse. Cuando la sangre llega al hígado se producen otros cambios, mientras se determina el destino de cada aminoácido. Las cantidades excesivas de todos los ANE y de la mayoría de los AE se degradan. La concentración de determinados aminoácidos, que son los **aminoácidos de cadena ramificada (ACR)**, permanece sin alterar. (Los ACR son leucina, isoleucina y valina.) Por lo tanto, la sangre que abandona el hígado tras una comida con abundantes proteínas está enriquecida en ACR debido a la degradación selectiva de cantidades excesivas de otros aminoácidos. Aparentemente, los ACR representan una for-

ma principal de transporte del nitrógeno amino desde el hígado a otros tejidos, donde se utiliza para la síntesis de los ANE que se requieren para la síntesis de proteínas, así como de diversos derivados de aminoácidos.

Las reacciones de **transaminación** dominan el metabolismo de los aminoácidos. En estas reacciones, que están catalizadas por un grupo de enzimas que se denominan *aminotransferasas* o *transaminasas*, los grupos α-amino se transfieren desde un α-aminoácido a un α-cetoácido:

$$R_2{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^- \; + \; R_1{-}\underset{\overset{+}{N}H_3}{\overset{H}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^- \;\rightleftharpoons\; R_1{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^- \; + \; R_2{-}\underset{\overset{+}{N}H_3}{\overset{H}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^-$$

Cetoácido aceptor **Aminoácido donador** **Nuevo cetoácido** **Nuevo aminoácido**

(Recuerde que en los α-cetoácidos, como el α-cetoglutarato y el piruvato, un grupo carbonilo se encuentra adyacente al grupo carboxilo.) Debido a que las reacciones de transaminación son fácilmente reversibles, desempeñan un papel importante tanto en la síntesis como en la degradación de los aminoácidos.

Tras presentar la fijación del nitrógeno, se describen las características esenciales de la biosíntesis de los aminoácidos. A continuación se realiza una descripción de la biosíntesis de moléculas nitrogenadas seleccionadas. Se hace un énfasis especial en las rutas anabólicas de los nucleótidos. En el capítulo siguiente (Capítulo 15) se traza el flujo de nitrógeno a través de varias rutas catabólicas hasta los productos de desecho que eliminan los animales.

14.1 FIJACIÓN DEL NITRÓGENO

Diversas circunstancias limitan la cantidad de nitrógeno utilizable del que se puede disponer en la biosfera. Debido a la estabilidad química del gas atmosférico dinitrógeno (N_2), su reducción para formar NH_3 (que se denomina **fijación del nitrógeno**) requiere un gran aporte de energía. Por ejemplo, para reducir un N_2 a dos NH_3 se requieren al menos 16 ATP. Además, sólo una pocas especies procariotas pueden «fijar» nitrógeno. Las más destacadas son varias especies de bacterias de vida libre (p. ej., *Azotobacter vinelandii* y *Clostridium pasteurianum*), las cianobacterias (p. ej., *Nostoc muscorum* y *Anabaena azollae*) y las bacterias simbióticas (p. ej., varias especies de *Rhizobium*). Los organismos simbióticos forman relaciones mutualistas, es decir, relaciones beneficiosas para ambos, con plantas y animales. Por ejemplo, las especies de *Rhizobium* infectan las raíces de las plantas leguminosas como la soja y la alfalfa (Recuadro de Interés Especial 14.1).

Todas las especies que pueden fijar nitrógeno poseen el *complejo nitrogenasa*, cuya estructura es semejante en todas las especies investigadas hasta ahora, y que consta de dos proteínas que se denominan dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa. La dinitrogenasa (240 kD), que también se denomina *proteína Fe-Mo*, es un heterotetrámero $\alpha_2\beta_2$ que contiene dos átomos de molibdeno (Mo) y 30 átomos de hierro. Cataliza la reacción $N_2 + 8\ H^+ + 8\ e^- \rightarrow 2\ NH_3 + H_2$. La dinitrogenasa reductasa (60 kD), que también se denomina *proteína Fe*, es un dímero que contiene subunidades idénticas.

A pesar de un número considerable de estudios, la fijación del nitrógeno no se conoce aún totalmente; sin embargo, se han elucidado varios aspectos (Fig. 14-1). El NADH (o NADPH) es la fuente final de los electrones que se requieren para la reducción del dinitrógeno. Las moléculas de coenzima reducida ceden los electrones a la proteína hierro-azufre ferredoxina, que posteriormente los transfiere a la dinitrogenasa reductasa. Se requiere la hidrólisis de 16 moléculas de ATP para transferir 8 electrones desde la dinitrogenasa reductasa a la dinitrogenasa para facilitar la reducción de un N_2 a dos moléculas de NH_3 y dos iones hidrógeno a una molécula de H_2. Una vez que se ha sintetizado el amoníaco, éste se utiliza para sintetizar glutamina

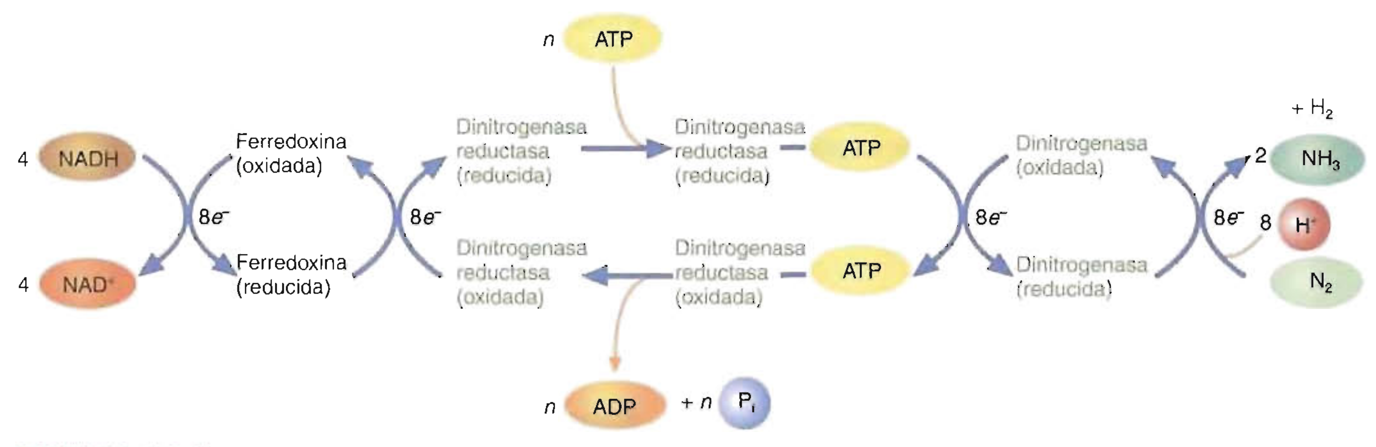


FIGURA 14-1

Diagrama esquemático del complejo nitrogenasa que describe el flujo de electrones y de energía en la fijación enzimática del nitrógeno. La elevada energía de activación de la fijación del nitrógeno se supera mediante un gran número de moléculas de ATP (alrededor de 16 ATP por molécula de N_2). Tanto la unión del ATP a la dinitrogenasa reductasa como su consiguiente hidrólisis producen cambios conformacionales de la proteína que facilitan la transferencia de electrones a la dinitrogenasa.

(Sección 14.2). (En presencia de ATP y cantidades bajas de N_2, se forman cantidades significativas de H_2. Por ejemplo, se ha calculado que los cultivos americanos de soja infectados con *Rhizobium japonicum* producen anualmente miles de millones de metros cúbicos de H_2.)

El O_2 inactiva irreversiblemente los dos componentes del complejo nitrogenasa. Los organismos fijadores de nitrógeno resuelven este problema de diversas maneras. Los organismos anaerobios, como *Clostridium*, sólo crecen en los suelos anaerobios, mientras que muchas de las cianobacterias producen células especializadas que contienen nitrogenasa y que se denominan heteroquistes. Las gruesas paredes celulares de los heteroquistes aíslan a la enzima del oxígeno atmosférico. Las legumbres producen una proteína ligadora de oxígeno que se denomina *leghemoglobina*, que atrapa el oxígeno antes de que pueda interaccionar con el complejo nitrogenasa.

PREGUNTA 14.1

Proporcione las estructuras de los productos del complejo nitrogenasa para cada uno de los siguientes sustratos (reales o hipotéticos) que contienen triples enlaces:

a. cianuro de hidrógeno
b. dinitrógeno
c. acetileno

PREGUNTA 14.2

¿Cuáles son los sustratos y componentes enzimáticos de la fijación del nitrógeno? Coloque cada uno en el orden correcto en el que los electrones y los protones se transfieren al dinitrógeno.

14.2 BIOSÍNTESIS DE LOS AMINOÁCIDOS

Los seres vivos se diferencian en su capacidad de sintetizar los aminoácidos que se requieren para la síntesis de proteínas. Aunque los vegetales y muchos microorganismos pueden producir todos sus aminoácidos a partir de precursores de fácil disposición, otros organismos deben obtener algunos aminoácidos ya formados a partir de su entorno. Por ejemplo, los tejidos de los mamíferos pueden sintetizar los ANE (Cuadro 14-1) mediante rutas de reacción relativamente sencillas. Por el contrario, los AE deben obtenerse del alimento, ya que los mamíferos carecen de las rutas de reacción largas y complejas que se requieren para su síntesis.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 14.1. Fijación del nitrógeno y agricultura

Los granjeros han utilizado la rotación de cultivos con legumbres durante siglos para conservar la fertilidad del suelo. En la rotación de cultivos, los campos se utilizan alternativamente para cultivos con gran demanda de nitrógeno, como el maíz, y para las legumbres, que producen nitrógeno. A pesar de su importancia en la producción de alimentos, el origen de esta práctica permanece sin aclarar. Hasta 1888 no se descubrieron esas bacterias (que posteriormente se denominaron *Rhizobium*) dentro de los nódulos de las raíces de las leguminosas. La consiguiente presentación de patentes para un inoculador de legumbres, por compañías británicas y americanas, fue un primer hito de los intentos comerciales para mejorar la agricultura.

Al conocerse la función del nitrógeno en la fertilidad del suelo, comenzaron a utilizarse los fertilizantes comerciales. El guano fue uno de los fertilizantes comerciales más populares hasta comienzos del siglo XX. (El guano es una fuente abundante de nitrógeno. Se encuentra en grandes depósitos en las islas de la costa de Chile y Perú, y consiste esencialmente en el excremento de los pájaros marinos.) La producción comercial de fertilizantes artificiales fue posible al comienzo del siglo XX. Entre 1907 y 1909 el químico alemán Fritz Haber puso a punto un método para producir amoníaco a partir de N_2 y H_2 a temperatura y presión elevadas, que se denomina proceso de Haber. El proceso de Haber original utilizaba el H_2 que se obtenía en la producción de coque (el carbón calentado tan intensamente que se eliminan la mayoría de los gases) y el N_2, que procedía de la destilación fraccionada del aire líquido. Los gases hidrógeno y nitrógeno se calentaban a 550 °C a una presión de 2 atm en presencia de un catalizador de hierro. El amoníaco producido se oxidaba para formar nitrato, que se empleaba como fertilizante. Las temperaturas y presiones más elevadas (es decir, 700 °C y 1000 atm) que se utilizan en la moderna fijación del nitrógeno industrial han mejorado de forma significativa la eficacia del proceso de Haber.

Las mejoras modernas de la eficacia del proceso de Haber han conducido a una gran utilización de los fertilizantes comerciales. Este factor, más un incremento continuo de la población (que se calcula sea de 6900 millones en 2010) y unos suministros menguantes e inevitablemente más caros de combustibles fósiles han dado lugar a un incremento sustancial de los costes agrícolas. Como respuesta a la presión creciente para mejorar el rendimiento económico de la producción de cultivos agrícolas, los científicos han explorado otras tecnologías. Una respuesta posible a los requerimientos futuros de la fijación del nitrógeno es la utilización de la tecnología del DNA para producir especies vegetales con capacidad propia para fijar nitrógeno. Aunque los científicos han estado trabajando casi dos décadas en este proyecto, aún no ha llegado el éxito. La fijación biológica del nitrógeno es inexplicablemente compleja. Por ejemplo, la fijación del nitrógeno por la bacteria *Klebsiella* requiere las funciones de al menos 18 genes (que se denominan genes nif). Además de codificar los componentes proteicos de la nitrogenasa, estos genes codifican también moléculas que se utilizan en el transporte electrónico, el procesamiento de metales y la coordinación de los componentes de un sistema de fijación del nitrógeno funcional. A pesar de estas dificultades, cualquier éxito en esta actuación (p. ej., producir vegetales que puedan fijar su propio nitrógeno o generar relaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno) reducirán la dependencia de los caros fertilizantes artificiales. Las consecuencias en términos de producción de alimentos y precios de los alimentos serán revolucionarias.

Visión general del metabolismo de los aminoácidos

Los aminoácidos desempeñan diversas funciones. Aunque el papel más importante de los aminoácidos es la síntesis de proteínas, también son la fuente principal de los átomos de nitrógeno que se requieren en diversas rutas de reacción de síntesis. Además, las partes no nitrogenadas de los aminoácidos (que se denominan esqueletos carbonados) son una fuente de energía, así como de precursores de varias rutas de reacción. Por lo tanto, para el crecimiento y desarrollo adecuados del animal es esencial una ingestión adecuada de aminoácidos en forma de proteínas del alimento.

Las fuentes proteicas del alimento se diferencian mucho con relación a sus proporciones de AE. En general, las proteínas completas (aquellas que contienen cantidades suficientes de AE) son de origen animal (p. ej., carne, leche y huevos). Las proteínas vegetales con frecuencia carecen de uno o varios AE. Por ejemplo, la gliadina (proteína del trigo) tiene cantidades insuficientes de lisina, y la zeína (proteína del maíz) tiene cantidades bajas de lisina y triptófano. Debido a que las proteínas vegetales difieren en sus composiciones de aminoácidos, los alimentos vegetales sólo pueden proporcionar una fuente de calidad elevada de los aminoácidos esenciales si se ingieren en combinaciones adecuadas. Una de estas combinaciones la forman las judías (poca metionina) y los cereales (poca lisina).

Las moléculas de aminoácidos de disposición inmediata para su uso en los procesos metabólicos se denominan **reserva de aminoácidos**. En los animales, los aminoácidos de la reserva proceden de la degradación de las proteínas del alimento y de la de los tejidos. Los productos nitrogenados que se excretan, como la urea y el ácido úrico, salen de la reserva. El metabolismo de los aminoácidos es un conjunto complejo de reacciones en las que las moléculas de aminoácidos que se requieren para la síntesis de proteínas y de otros metabolitos se están sintetizando y degradando continuamente. Dependiendo de las necesidades metabólicas, se sintetizan determinados aminoácidos o se interconvierten y luego se transportan a los tejidos, en los que

CUADRO 14-1

Aminoácidos esenciales y no esenciales para el ser humano

Esencial	No esencial
Fenilalanina	Alanina
Leucina	Arginina*
Lisina	Asparagina
Metionina	Aspartato
Isoleucina	Cisteína
Treonina	Glicina
Triptófano	Glutamato
Valina	Glutamina
	Histidina*
	Prolina
	Serina
	Tirosina

* Aminoácidos que son esenciales para los niños

se utilizan. Cuando la ingestión de nitrógeno (principalmente aminoácidos) es igual a la pérdida de nitrógeno, se dice que el cuerpo se encuentra en un *equilibrio nitrogenado*. Ésta es la situación de los adultos sanos. En el *balance positivo de nitrógeno*, una situación que es típica de los niños que crecen, las mujeres embarazadas y los pacientes que se recuperan, la ingestión de nitrógeno es mayor que las pérdidas. Se retiene el exceso de nitrógeno debido a que la cantidad de proteínas tisulares que se sintetiza supera a la cantidad que se degrada. El *balance negativo de nitrógeno* se produce cuando una persona no puede sustituir las pérdidas de nitrógeno con las fuentes alimentarias. El *kwashiorkor* («la enfermedad que adquiere el primer niño cuando está de camino el segundo») es una forma de malnutrición que produce una ingestión insuficiente y prolongada de proteínas. Sus síntomas son retraso del crecimiento, apatía, úlceras, agrandamiento del hígado y diarrea, así como un descenso de la masa y función del corazón y los riñones. El kwashiorkor, que es prevalente en África, Asia y América Central y del Sur, puede tratarse con una alimentación con gran cantidad de proteínas de calidad elevada, como la leche, los huevos y la carne.

El transporte de los aminoácidos al interior de las células se produce con intervención de proteínas transportadoras de membrana, muchas de las cuales se han identificado en las células de los mamíferos. Se diferencian en su especificidad por los aminoácidos que transportan y en si el proceso de transporte está ligado al movimiento de Na^+ a través de la membrana plasmática. (Recuerde que el gradiente que crea el transporte activo de Na^+ puede mover moléculas a través de la membrana. El transporte de los aminoácidos dependiente de Na^+ es semejante al observado en el proceso de transporte de glucosa que se presenta en la Fig. 11-28.) Por ejemplo, se han identificado dentro de la membrana plasmática de la luz de los enterocitos sistemas de transporte dependientes de Na^+. Los sistemas de transporte independientes de Na^+ son responsables del transporte de los aminoácidos a través de la porción de la membrana plasmática de los enterocitos en contacto con los vasos sanguíneos. El ciclo del γ-glutamilo (Sección 14.3) se cree que ayuda a transportar algunos aminoácidos al interior de tejidos específicos (esto es, cerebro, intestino y riñón).

PREGUNTA 14.3 Si una célula carece de un aminoácido esencial, la síntesis de proteínas se bloquea. Explíquelo.

Reacciones de los grupos amino

Una vez que las moléculas de aminoácido han entrado en las células, sus grupos amino pueden utilizarse para las reacciones de síntesis. Esta flexibilidad metabólica

está afectada principalmente por las reacciones de transaminación en las que los grupos amino se transfieren desde un α-aminoácido a un α-cetoácido. Sin embargo, también se producen otra clase de reacciones en las que el NH_4^+ o el nitrógeno amida de la glutamina se utilizan para suministrar el grupo amino o el nitrógeno amida de determinados aminoácidos. A continuación se consideran estas reacciones.

TRANSAMINACIÓN Las células eucariotas poseen una gran variedad de aminotransferasas. Estas enzimas, que se encuentran tanto en el citoplasma como en las mitocondrias, poseen dos tipos de especificidad: (1) la del α-aminoácido, que dona el grupo α-amino, y (2) la del α-cetoácido, que acepta el grupo α-amino. Aunque las aminotransferasas varían de acuerdo con el tipo de aminoácido que unen, la mayoría de ellas utilizan el glutamato como donador del grupo amino:

$$\underset{\alpha\text{-Cetoácido aceptor}}{R_1{-}CO{-}COO^-} + \underset{\text{Glutamato}}{^-OOC{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(\overset{+}{N}H_3){-}COO^-} \rightleftharpoons \underset{\text{Aminoácido nuevo}}{R_1{-}CH(\overset{+}{N}H_3){-}COO^-} + \underset{\alpha\text{-Cetoglutarato}}{^-OOC{-}CH_2{-}CH_2{-}CO{-}COO^-}$$

Dado que se produce glutamato cuando el α-cetoglutarato (un intermediario del ciclo del ácido cítrico) acepta un grupo amino, estas dos moléculas (que se denominan *par α-cetoglutarato/glutamato*) tienen un papel estratégico importante en el metabolismo de los aminoácidos y en el metabolismo en general. Otros dos pares tienen funciones importantes en el metabolismo. Además de su papel en las reacciones de transaminación, el *par oxalacetato/aspartato* participa en la eliminación del nitrógeno en el ciclo de la urea (Capítulo 15). Una de las funciones más importantes del *par piruvato/alanina* es en el ciclo de la alanina (Fig. 8-9). Debido a que el α-cetoglutarato y el oxalacetato son intermediarios del ciclo del ácido cítrico, las reacciones de transaminación con frecuencia representan un mecanismo importante para satisfacer los requerimientos energéticos de las células.

Las reacciones de transaminación requieren la coenzima piridoxal-5′-fosfato (PLP), que procede de la piridoxina (vitamina B_6). El PLP también se requiere en muchas otras reacciones de los aminoácidos. Entre los ejemplos se encuentran las racemizaciones, las descarboxilaciones y varias modificaciones de la cadena lateral. (Las **racemizaciones** son reacciones en las que se forman mezclas de aminoácidos L- y D-.) En la Figura 14-2 se presentan las estructuras de la vitamina y su forma coenzimática.

Piridoxina   **Piridoxal**   **Piridoxamina**   **Piridoxal-5′-fosfato**

FIGURA 14-2
Vitamina B_6.
La vitamina B_6 incluye (a) la piridoxina, (b) el piridoxal y (c) la piridoxamina. (La piridoxina se encuentra en los vegetales verdes frondosos. El piridoxal y la piridoxamina se encuentran en los alimentos animales como el pescado, la pollería y la carne roja.) La forma biológicamente activa de la vitamina B_6 es (d) el piridoxal-5′-fosfato.

El PLP se une al lugar activo de la enzima mediante interacciones no covalentes y una base de Schiff (R′—CH=N—R, una aldimina) que se forma por la condensación del grupo aldehído del PLP y el grupo ε-amino de un residuo de lisina.

$$\text{PLP} + H_2N\text{—}(CH_2)_4\text{— Enzima} \rightleftharpoons \text{PLP—CH=N—}(CH_2)_4\text{— Enzima} + H_2O$$

Entre otras fuerzas que también estabilizan se encuentran las interacciones iónicas entre las cadenas laterales de los aminoácidos y el anillo de piridina del PLP y el grupo fosfato. El anillo de piridina cargado positivamente actúa también como un sumidero de electrones, estabilizando intermediarios de reacción cargados negativamente.

Los aminoácidos sustrato se unen al PLP por el grupo α-amino en una reacción de intercambio de imina. Luego uno de los tres enlaces del átomo de carbono α se rompe selectivamente en los lugares activos de cada tipo de enzima dependiente de PLP.

Esta selectividad depende de la presencia o ausencia de un catalizador básico cercano y de la orientación del aminoácido en el lugar activo. Si se produce una desprotonación inicial del carbono α del donador del grupo amino, pueden producirse una transaminación (rotura del enlace 2), o una racemización o una eliminación (rotura del enlace 3). Si no se produce la desprotonación inicial, tiene lugar una descarboxilación (rotura del enlace 1).

A pesar de la simplicidad aparente de la reacción de transaminación, el mecanismo es bastante complejo. La reacción comienza con la formación de una base de Schiff entre el PLP y el grupo α-amino de un α-aminoácido (Fig. 14-3). Cuando se elimina el átomo de hidrógeno α por una base general en el lugar activo de la enzima, se forma un intermediario estabilizado por resonancia. Con la cesión de un protón por un ácido general y una hidrólisis posterior, se libera desde la enzima el α-cetoácido recién formado. Luego entra en el lugar activo un segundo α-cetoácido

α-Aminoácido
+
Piridoxal fosfato

Enzima

Base de Schiff

Carbanión

Intermediario quinonoide

α-Cetoácido
+
Piridoxamina fosfato

FIGURA 14-3

Mecanismo de trasaminación.

El aminoácido donador forma una base de Schiff con el piridoxal fosfato dentro del lugar activo de la enzima. Tras la pérdida de un protón, se forma un carbanión y se estabiliza por resonancia mediante la interconversión a un intermediario quinonoide. Tras la transferencia de un protón catalizada por la enzima y una hidrólisis, se libera el producto α-ceto. Entonces entra un segundo α-cetoácido en el lugar activo. Este α-cetoácido aceptor se convierte en un producto α-aminoácido al invertirse el mecanismo que acaba de describirse.

y se convierte en un α-aminoácido en una inversión del proceso de reacción que se ha descrito. Las reacciones de transaminación son ejemplos de un mecanismo de reacción que se denomina *reacción bimolecular ping-pong*. El mecanismo recibe ese nombre debido a que el primer sustrato debe dejar el lugar activo antes de que entre el segundo.

PREGUNTA 14.4

Proporcione la estructura del α-cetoácido producto de la transaminación de cada una de las moléculas siguientes:

a. glutamina
b. isoleucina
c. fenilalanina
d. aspartato
e. cisteína

Dado que las reacciones de transaminación son reversibles, teóricamente es posible sintetizar todos los aminoácidos por transaminación. Sin embargo, las pruebas experimentales señalan que no existe síntesis neta de un aminoácido si el organismo no sintetiza su α-cetoácido precursor de forma independiente. Por ejemplo, la alanina, el aspartato y el glutamato son aminoácidos no esenciales para los animales debido a que sus α-cetoácidos precursores (es decir, piruvato, oxalacetato y α-cetoglutarato) son intermediarios metabólicos de fácil disposición. Como no existen en las células animales las rutas de reacción para sintetizar las moléculas como el fenilpiruvato, el α-ceto-β-hidroxibutirato y el imidazolpiruvato, deben proporcionarse en la alimentación la fenilalanina, la treonina y la histidina. (Las rutas de reacción que sintetizan los aminoácidos a partir de intermediarios metabólicos, no sólo por transaminación, se denominan rutas *de novo*.)

INCORPORACIÓN DIRECTA DE LOS IONES AMONIO A LAS MOLÉCULAS ORGÁNICAS Existen dos medios principales mediante los cuales los iones amonio se incorporan en los aminoácidos y finalmente en otros metabolitos: (1) aminación reductora de α-cetoácidos (2) formación de las amidas del ácido aspártico y del ácido glutámico con la consiguiente transferencia del nitrógeno amida para formar otros aminoácidos.

La glutamato deshidrogenasa, una enzima que se encuentra en las mitocondrias y en el citoplasma de las células eucariotas y en algunas células bacterianas, cataliza la aminación directa del α-cetoglutarato:

$$^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + NH_4^+ + NADH + H^+ \rightleftharpoons$$

α-Cetoglutarato

$$^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\overset{H}{\overset{|}{\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + NAD^+ + H_2O$$

Glutamato

La función principal de esta enzima en los eucariotas parece ser catabólica (es decir, un medio para producir NH_4^+ como preparación para la eliminación de nitrógeno). Sin embargo, la reacción es reversible. Cuando se encuentra presente un exceso de amoníaco, la reacción se lleva hacia la síntesis de glutamato.

Los iones amonio se incorporan también en metabolitos celulares mediante la formación de glutamina, la amida del glutamato:

$$^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{\overset{H}{\overset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + ATP + NH_4^{+} \longrightarrow$$

Glutamato

$$H_2N-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{\overset{H}{\overset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + ADP + P_i$$

Glutamina

El cerebro, una fuente abundante de la enzima glutamina sintasa, es especialmente sensible a los afectos tóxicos del NH_4^+. Las células cerebrales convierten el NH_4^+ en glutamina, una molécula neutra no tóxica. Luego la glutamina se lleva hasta el hígado, donde tiene lugar la producción de los desechos nitrogenados.



En los vegetales, la ruta por la que se incorpora la mayoría de NH_4^+ en moléculas orgánicas requiere dos enzimas: la glutamina sintasa y la glutamato sintasa. Tras incorporarse el NH_4^+ a la glutamina por la glutamina sintasa, el nitrógeno amida se transfiere al grupo 2-ceto del α-cetoglutarato por la glutamato sintasa. Los 2 electrones que se requieren en esta reacción los proporciona la ferredoxina reducida en algunos tejidos vegetales (p. ej., las hojas) y el NADPH en otros tejidos (p. ej., raíces y semillas en germinación).

$$H_2N-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{\overset{H}{\overset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + {}^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + 2\,e^{-}$$

Glutamina **α-Cetoglutarato**

$$\longrightarrow 2\ {}^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{\overset{H}{\overset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-}$$

Glutamato

Uno de los dos glutamatos producto de esta reacción se utiliza posteriormente como sustrato en una reacción catalizada por la glutamina sintasa. Por consiguiente, en los vegetales hay una producción neta de una molécula de glutamato por cada NH_4^+ que entra en el proceso:

$$NH_4^{+} + {}^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + ATP + 2\,e^{-}$$

α-Cetoglutarato

$$\longrightarrow {}^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\underset{^{+}NH_3}{\underset{|}{\overset{H}{\overset{|}{C}}}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^{-} + ADP + P_i$$

Glutamato

CONCEPTOS CLAVE 14.1

En las reacciones de transaminación, los grupos amino se transfieren desde un esqueleto carbonado a otro. En la aminación reductora, los aminoácidos se sintetizan por la incorporación de NH_4^+ libre o el nitrógeno amida de la glutamina o la asparagina a los α-cetoácidos. Los iones amonio se incorporan también a metabolitos celulares por la aminación del glutamato para formar glutamina.

Síntesis de los aminoácidos

Los aminoácidos se diferencian de otras clases de biomoléculas en que cada miembro de esta clase se sintetiza mediante una ruta única. A pesar de la tremenda diversidad de rutas de síntesis de aminoácidos, todas tienen una característica común. El esqueleto carbonado de cada aminoácido procede de intermediarios metabólicos de fácil disposición. Así, en los animales todas las moléculas de los ANE proceden del glicerato-3-fosfato, el piruvato, el α-cetoglutarato o el oxalacetato. La tirosina, que se sintetiza a partir del aminoácido esencial fenilalanina, es una excepción a esta regla.

De acuerdo con las semejanzas de sus rutas de síntesis, los aminoácidos pueden agruparse en seis familias: glutamato, serina, aspartato, piruvato, aromáticos e histidina. Los aminoácidos de cada familia proceden en última instancia de una molécula precursora. En la siguiente exposición de la síntesis de aminoácidos queda clara la íntima relación entre el metabolismo de los aminoácidos y otras rutas metabólicas. En la Figura 14-4 se da un resumen de la biosíntesis de los aminoácidos.

FAMILIA DEL GLUTAMATO La familia del glutamato comprende, además del glutamato, la glutamina, la prolina y la arginina. Como se ha descrito, el α-cetoglutarato puede convertirse en glutamato mediante reacciones de aminación reductora y de transaminación con participación de varios aminoácidos. Aunque la contribución relativa de estas reacciones a la síntesis de glutamato varía con el tipo celular y las circunstancias metabólicas, en las células eucariotas la transaminación parece desempeñar una función esencial en la síntesis de la mayoría de las moléculas de glutamato. Además de ser un componente de las proteínas y precursor de otros aminoácidos, el glutamato se utiliza también en el sistema nervioso central como neurotransmisor excitador. (La unión de los *neurotransmisores excitadores* a determinados receptores de las membranas de las células nerviosas promueve la despolarización de la membrana.)

La conversión del glutamato en glutamina, que cataliza la glutamina sintasa, tiene lugar en diversos tejidos de los mamíferos (hígado, cerebro, riñón, músculo e intestino). Los aminoácidos ramificados (AR) son una fuente importante de grupos amino en la síntesis de glutamina. Como se ha mencionado, la sangre que abandona el hígado se encuentra enriquecida de forma selectiva en AR. Se captan muchos más AR por los tejidos periféricos que los que se necesitan para la síntesis de proteínas. Los grupos amino de los AR pueden utilizarse en primer lugar para la síntesis de los aminoácidos no esenciales. Además de su papel en la síntesis de proteínas, la glutamina es el donador del grupo amino en numerosas reacciones de biosíntesis (p. ej., síntesis de purinas, pirimidinas y aminoazúcares) y, como se ha mencionado previamente, como forma de almacenamiento y transporte seguro del NH_4^+. Por lo tanto, la glutamina es un metabolito importante en los seres vivos. Otras funciones de la glutamina varían, dependiendo del tipo celular que se considere. Por ejemplo, en el riñón y en el intestino delgado, la glutamina es una fuente de energía importante. En el intestino delgado, aproximadamente el 55% del carbono de la glutamina se oxida a CO_2.

La prolina es un derivado cíclico del glutamato. Como se muestra en la Figura 14-5, un intermediario γ-glutamil fosfato se reduce a glutamato γ-semialdehído. La enzima que cataliza la fosforilación del glutamato (γ-glutamil quinasa) se regula mediante retroinhibición por la prolina. El glutamato γ-semialdehído se cicla espontáneamente para formar Δ^1-pirrolina-5-carboxilato. La Δ^1-pirrolina-5-carboxilato reductasa cataliza la reducción de la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato para formar prolina. La interconversión de la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato y la prolina puede actuar como un mecanismo de lanzadera para transferir equivalentes reductores procedentes de la ruta de las pentosas fosfato al interior de las mitocondrias. Este proceso puede explicar parcialmente el elevado recambio de la prolina en muchos tipos celulares. La prolina puede sintetizarse también a partir de la ornitina, un intermediario del ciclo de la urea. (El ciclo de la urea es una ruta en la que se produce urea, que es el principal producto nitrogenado de desecho de los mamíferos. En el Capítulo 15 se expone la síntesis de la urea.) La enzima que cataliza la conversión de la ornitina en glutamato-γ-semialdehído, la ornitina aminotransferasa, se encuentra en una concentración relativamente elevada en las células (p. ej., los fibroblastos) donde la demanda de incorporación de prolina en el colágeno es elevada.

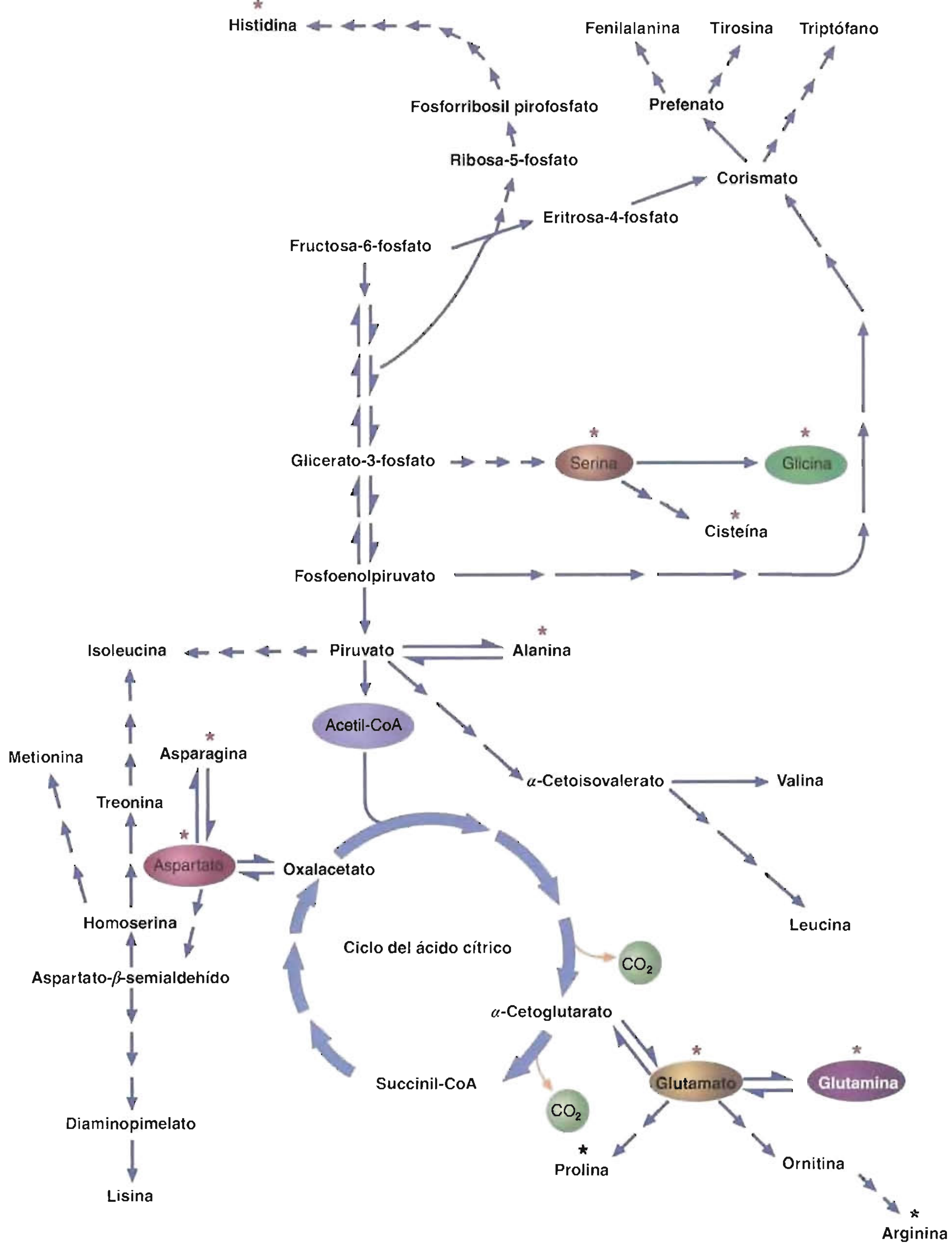


FIGURA 14-4

Biosíntesis de los aminoácidos.

Los intermediarios de las rutas metabólicas centrales proporcionan las moléculas precursoras del esqueleto carbonado que se requieren para la síntesis de cada aminoácido. También se indican Se indica el número de reacciones de cada ruta. Se indican mediante asteriscos los aminoácidos no esenciales para los mamíferos. (En los mamíferos, la tirosina puede sintetizarse a partir de la fenilalanina.)

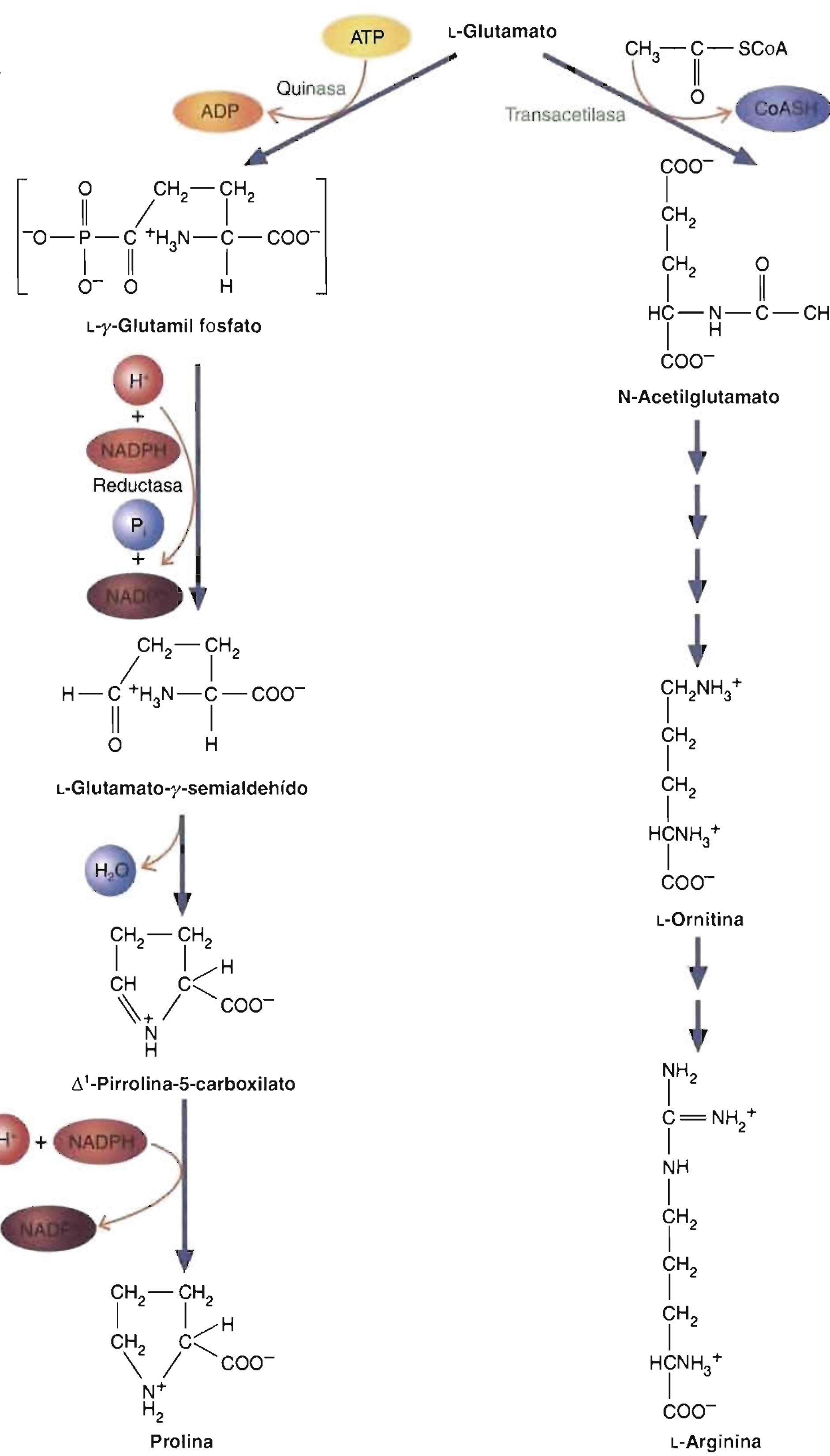


FIGURA 14-5

Biosíntesis de prolina y arginina a partir del glutamato.

La prolina se sintetiza a partir del glutamato en tres pasos. El segundo paso es una reacción espontánea de ciclación. En la síntesis de arginina la acetilación del glutamato impide la reacción de ciclación. En los mamíferos, las reacciones que convierten la ornitina en arginina son parte del ciclo de la urea.

El glutamato también es precursor de la arginina. La síntesis de arginina comienza con la acetilación del grupo α-amino del glutamato. Posteriormente, el N-acetilglutamato se convierte en ornitina mediante un conjunto de reacciones con una fosforilación, una transaminación y una desacetilación (eliminación de un grupo acetilo). Las reacciones siguientes en las que la ornitina se convierte en arginina son

parte del ciclo de la urea. En los niños, en los que el ciclo de la urea es funcionalmente insuficiente, la arginina es un aminoácido esencial.

FAMILA DE LA SERINA Los miembros de la familia de la serina, que son serina, glicina y cisteína, obtienen sus esqueletos carbonados a partir del intermediario glucolítico glicerato-3-fosfato. Los miembros de este grupo desempeñan funciones importantes en numerosas rutas anabólicas. La serina es precursora de la etanolamina y la esfingosina. La glicina se utiliza en las rutas de síntesis de purinas, porfirinas y glutatión. Juntas, la serina y la glicina contribuyen a un conjunto de rutas de biosíntesis que se denominan, en conjunto, metabolismo de un carbono (se expone en la Sección 14.3). La cistina desempaña un papel significativo en el metabolismo del azufre (Capítulo 15).

La serina se sintetiza en una ruta directa desde el glicerato-3-fosfato que implica deshidrogenación, transaminación e hidrólisis por una fosfatasa (Fig. 14-6). La concentración celular de serina controla la ruta mediante retroinhibición de la fosfoglicerato deshidrogenasa y la fosfoserina fosfatasa. Esta última enzima cataliza el único paso irreversible de la ruta.

La conversión de serina en glicina consta de una única reacción compleja que cataliza la serina hidroximetil transferasa, una enzima que requiere piridoxal fosfato. Durante la reacción, que es una rotura aldólica, la serina se une al piridoxal fosfato. La reacción proporciona glicina y un grupo formaldehído químicamente reactivo que se transfiere al tetrahidrofolato (THF) para formar N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato. (La coenzima tetrahidrofolato se considera en la Sección 14.3.) La serina es la fuente principal de glicina. Pueden obtenerse cantidades menores de glicina a partir de colina, cuando esta última molécula se encuentra en exceso. La síntesis de glicina a partir de colina consta de dos deshidrogenaciones y un conjunto de desmetilaciones. La glicina actúa como neurotransmisor inhibidor en el sistema nervioso central. (Cuando los *neurotransmisores inhibidores* se unen a los receptores de las células nerviosas, que normalmente están ligados a los canales de cloruro, la membrana se hiperpolariza. Dado que el interior de la membrana es más negativo en las neuronas hiperpolarizadas que en las neuronas en reposo, los potenciales de acción son improbables.)

La síntesis de cisteína es un componente principal del metabolismo del azufre. El esqueleto carbonado de la cisteína procede de la serina (Fig. 14-7). En los animales, el grupo sulfhidrilo se transfiere desde la metionina mediante la molécula intermediaria homocisteína. (Los vegetales y algunas bacterias obtienen el grupo sulfhidrilo mediante la reducción de SO_4^{2-} a S^{2-}. Unos pocos organismos utilizan directamente el H_2S del entorno.) Ambas enzimas implicadas en la conversión de la serina en cisteína (cistationina sintasa y γ-cistationasa) requieren piridoxal fosfato.

FAMILIA DEL ASPARTATO El aspartato, el primer miembro de la familia de aminoácidos del aspartato, se forma a partir del oxalacetato en una reacción de transaminación:

$$^{-}O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\underset{\underset{^{+}NH_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^{-} \quad + \quad ^{-}O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^{-} \quad \rightleftharpoons$$

Glutamato **Oxalacetato**

$$O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^{-} \quad + \quad ^{-}O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-\underset{\underset{^{+}NH_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^{-}$$

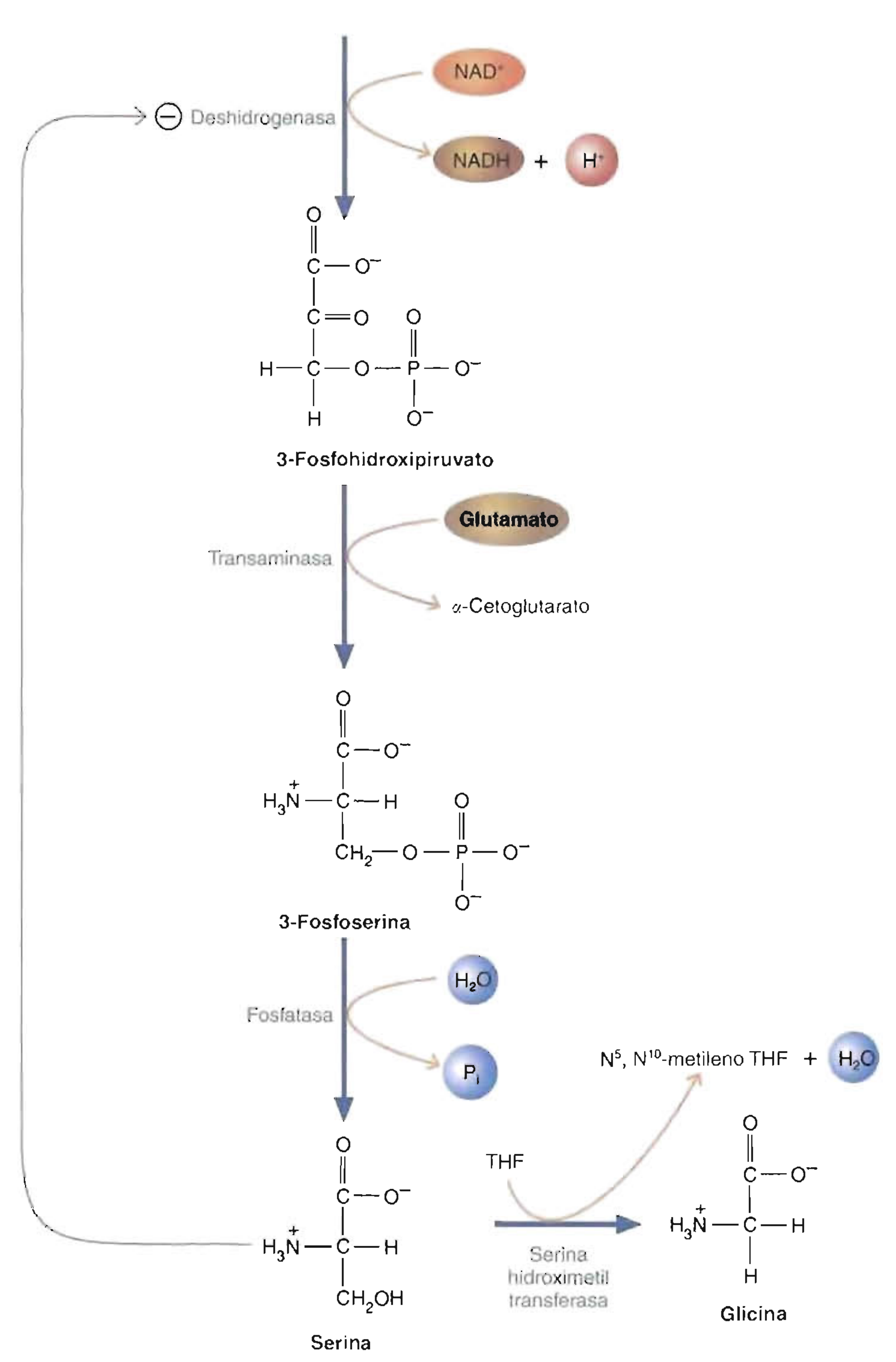
α-Cetoglutarato **Aspartato**

La aspartato transaminasa (AST) (conocida también como glutámico oxalacético transaminasa, o GOT), la transaminasa más activa, se encuentra en la mayoría de las células. Debido a que existen isoenzimas de AST en las mitocondrias y el citoplasma y la reacción que catalizan es reversible, esta actividad enzimática influye signi-

FIGURA 14-6

Biosíntesis de serina y glicina.

La serina inhibe la glicerato-3-fosfato deshidrogenasa, la primera reacción de la ruta.



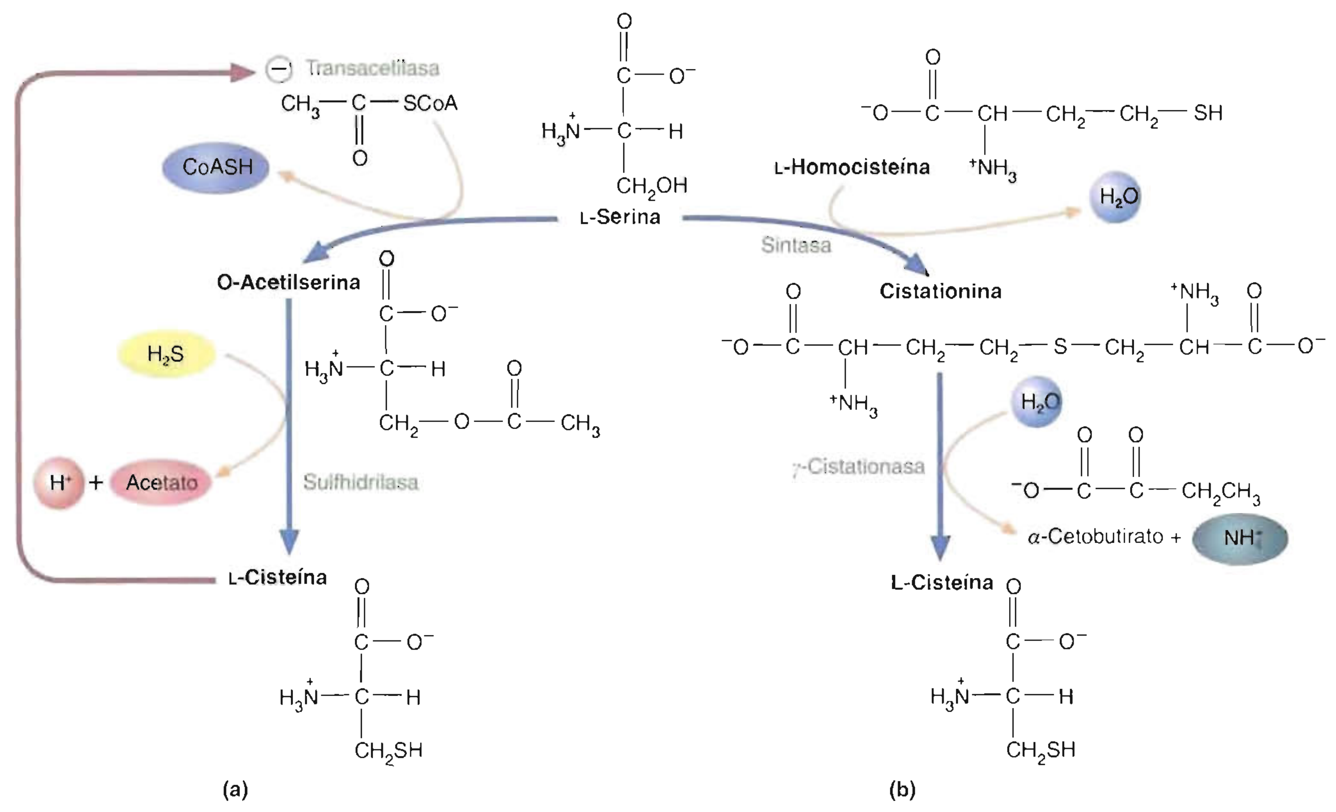


FIGURA 14-7

Biosíntesis de cisteína

(a) En los vegetales y algunas bacterias, la cisteína se sintetiza en una ruta de dos pasos. La serina se acetila por la serina acetil transferasa. El grupo acetilo se desplaza luego en una reacción con H_2S. (b) En los animales, la serina se condensa con la homocisteína (que se forma a partir de la metionina) para formar cistationina. La γ-cistationasa cataliza la rotura de la cistationina para dar cisteína, α-cetobutirato y NH_4^+.

ficativamente sobre el flujo de carbono y nitrógeno dentro de la célula. Por ejemplo, el exceso de glutamato lo convierte la AST en aspartato. Éste se utiliza posteriormente como fuente de nitrógeno (para la formación de urea) y el intermediario del ciclo del ácido cítrico fumarato. El aspartato también es un precursor importante de la síntesis de nucleótidos.

La familia del aspartato también contiene asparagina, lisina, metionina y treonina. Esta última contribuye a la ruta de reacción en la que se sintetiza la isoleucina. La síntesis de isoleucina, que suele considerarse un miembro de la familia del piruvato, se considera en la pág. 467.

La asparagina, la amida del aspartato, no se forma directamente a partir del aspartato y el NH_4^+, sino que el grupo amida de la glutamina se transfiere mediante transferencia del grupo amida durante una reacción que requiere ATP, catalizada por la asparagina sintasa:

$$^-O{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH(^+NH_3){-}C({=}O){-}O^- + H_2N{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(^+NH_3){-}C({=}O){-}O^- + ATP + H_2O \longrightarrow$$

Aspartato + Glutamina

$$H_2N{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH(^+NH_3){-}C({=}O){-}O^- + {}^-O{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(^+NH_3){-}C({=}O){-}O^- + AMP + PP_i$$

Asparagina + Glutamato

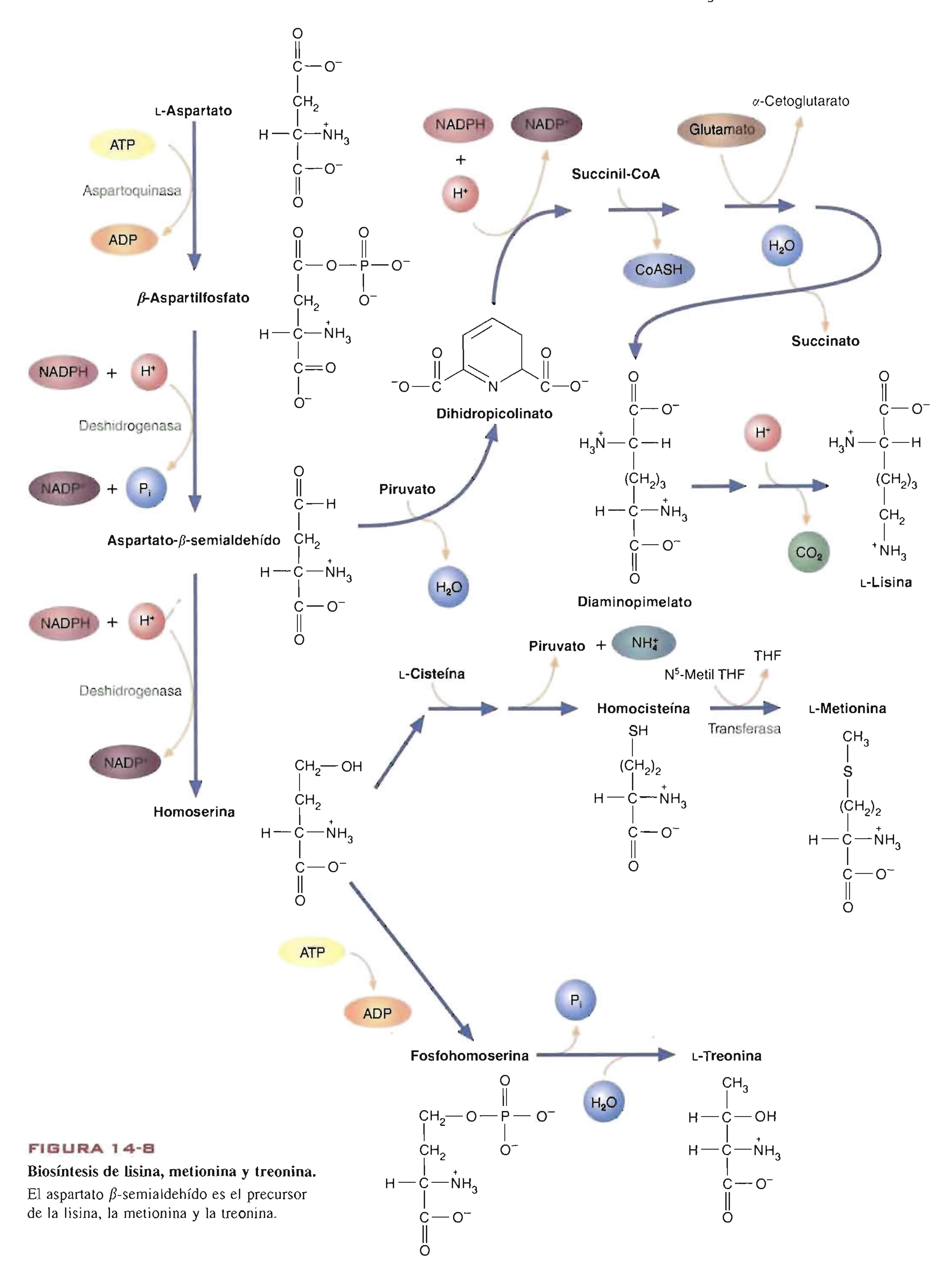


FIGURA 14-8

Biosíntesis de lisina, metionina y treonina. El aspartato β-semialdehído es el precursor de la lisina, la metionina y la treonina.

La síntesis de los otros miembros de la familia del aspartato (Fig. 14-8) la inicia la aspartato quinasa (que también se denomina aspartoquinasa) en una reacción que requiere ATP en la que se fosforila el grupo carboxilo de la cadena lateral. El aspartato-β-semialdehído, producido por la reducción dependiente del NADPH del β-aspartilfosfato, representa un punto de ramificación importante en la síntesis de aminoácidos en los vegetales y las bacterias. El semialdehído puede reaccionar con el piruvato para formar ácido dihidropicolínico (un precursor de la lisina) o reducirse a homoserina. La lisina se sintetiza a partir del ácido dihidropicolínico en un conjunto de reacciones que aún no están bien caracterizadas. La homoserina también se encuentra en un punto de ramificación. Es el precursor de la síntesis de metionina y treonina.

FAMILIA DEL PIRUVATO La familia del piruvato está formada por alanina, valina, leucina e isoleucina. La alanina se sintetiza a partir del piruvato en un único paso:

$$\underset{\textbf{Piruvato}}{CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-} + \underset{\textbf{Glutamato}}{{}^-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\underset{\underset{\overset{+}{N}H_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-} \longrightarrow$$

$$\underset{\textbf{Alanina}}{CH_3-\underset{\underset{\overset{+}{N}H_3}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-} + \underset{\boldsymbol{\alpha}\textbf{-Cetoglutarato}}{{}^-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O^-}$$

Aunque la enzima que cataliza esta reacción, la alanina aminotransferasa, tiene formas citoplásmica y mitocondrial, la mayoría de su actividad se ha encontrado en el citoplasma. Recuerde que el ciclo de la alanina (Capítulo 8) contribuye al mantenimiento de la glucosa sanguínea. Los AR son la fuente última de muchos de los grupos amino que se transfieren desde el glutamato en el ciclo de la alanina (Fig. 8-9).

En la Figura 14-9 se presenta la síntesis de valina, leucina e isoleucina a partir de piruvato. La valina y la isoleucina se sintetizan en rutas paralelas con las mismas cuatro enzimas. La síntesis de valina comienza con la condensación de piruvato con hidroxietil-TPP (un producto de descarboxilación de un intermediario piruvato-pirofosfato de tiamina) catalizada por la ácido acetohidroxi sintasa. El producto α-acetolactato posteriormente se reduce para formar α,β-dihidroxiisovalerato seguido por una deshidratación a α-cetoisovalerato. La valina se produce en una reacción posterior de transaminación. (El α-cetoisovalerato también es un precursor de la leucina.) En la síntesis de la isoleucina también participa el hidroxietil-TPP, que se condensa con el α-cetobutirato para formar α-aceto-α-hidroxibutirato. (El α-cetobutirato procede de la L-treonina en una reacción de desaminación catalizada por la treonina desaminasa.) El α,β-dihidroxi-β-metilvalerato, el producto reducido del α-aceto-α-hidroxibutirato, pierde a continuación una molécula de H_2O, formando así α-ceto-β-metilvalerato. La isoleucina se produce a continuación durante una reacción de transaminación. En el primer paso de la biosíntesis de leucina a partir de α-cetoisovalerato, la acetil-CoA cede una unidad de dos carbonos. La leucina se forma tras isomerización, reducción y transaminación.

FAMILIA AROMÁTICA La familia de aminoácidos aromáticos comprende la fenilalanina, la tirosina y el triptófano. De éstos, sólo la tirosina se considera no esencial en los mamíferos. Se requieren bien la fenilalanina o la tirosina para la síntesis de dopamina, adrenalina y noradrenalina, una clase importante de moléculas biológicamente potentes que se denominan **catecolaminas** (Recuadro de Interés Especial 14.2). El triptófano es un precursor de la síntesis de NAD^+, $NADP^+$ y el neurotransmisor serotonina.

El anillo bencénico de los aminoácidos aromáticos se forma por la *ruta del sikimato*. Los carbonos del anillo bencénico proceden de la eritrosa-4-fosfato y el fos-

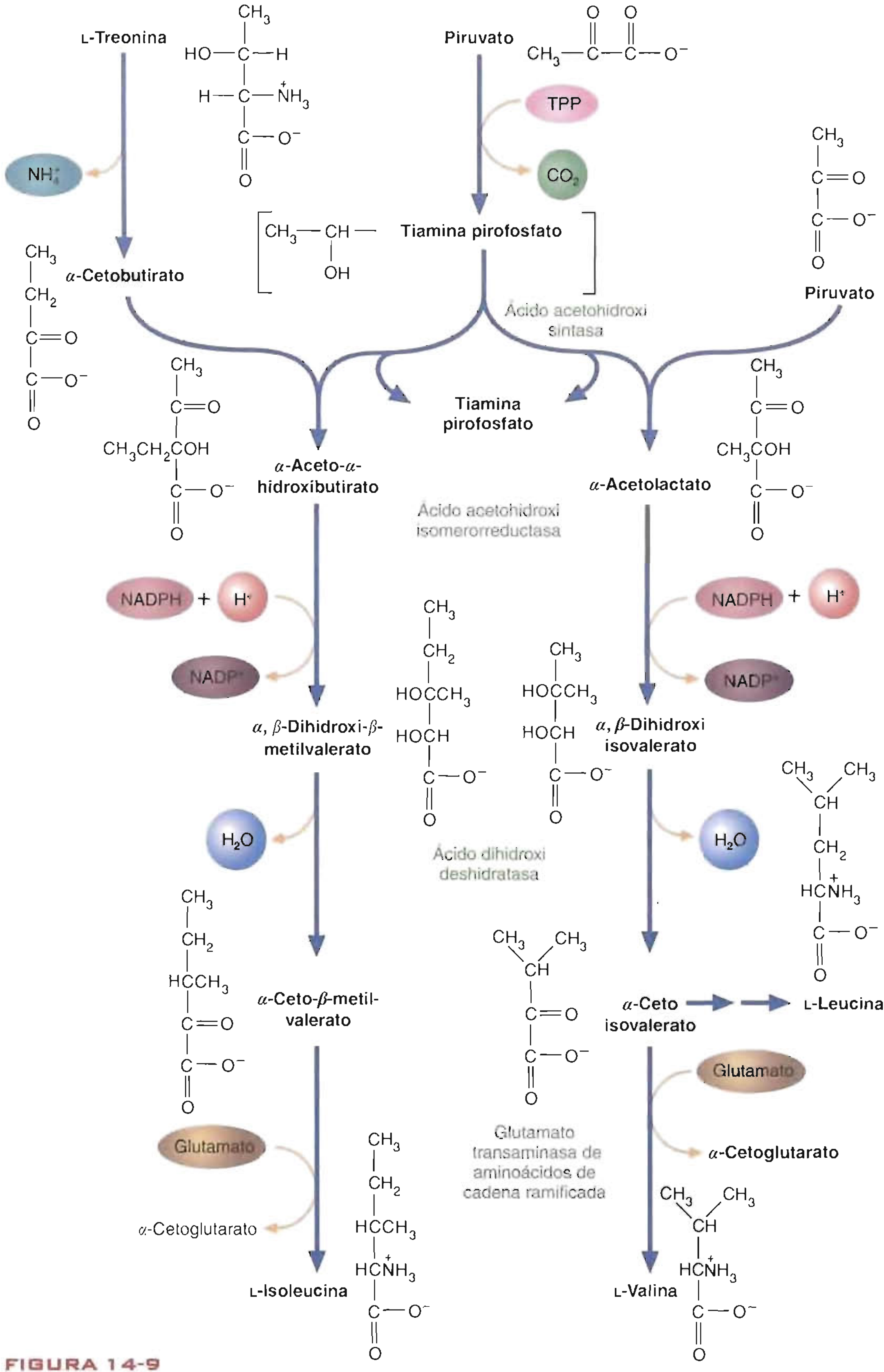


FIGURA 14-9

Biosíntesis de valina, leucina e isoleucina.

Las rutas de biosíntesis de valina e isoleucina comparten cuatro enzimas. La síntesis de isoleucina comienza con la reacción del α-cetobutirato (un derivado de la treonina) con piruvato. En la síntesis de valina el primer paso es la condensación de dos moléculas de piruvato. La leucina se produce por un conjunto de reacciones que comienzan con el α-cetoisovalerato, un intermediario de la síntesis de valina.

FIGURA 14-10

Biosíntesis de corismato.

El corismato es un intermediario de la ruta del sikimato. La formación de corismato comporta el cierre de un intermediario (2-ceto-3-desoxiarabino-heptulosonato-7-fosfato) y la consiguiente creación de dos dobles enlaces. La cadena lateral del corismato procede del fosfoenolpiruvato (PEP).

foenolpiruvato. Estas dos moléculas se condensan para formar 2-ceto-3-desoxi-arabinoheptulosonato-7-fosfato, una molécula que posteriormente se convierte en corismato en un conjunto de reacciones que se presentan en la Figura 14-10. El corismato es el punto de ramificación en la síntesis de varios compuestos aromáticos.

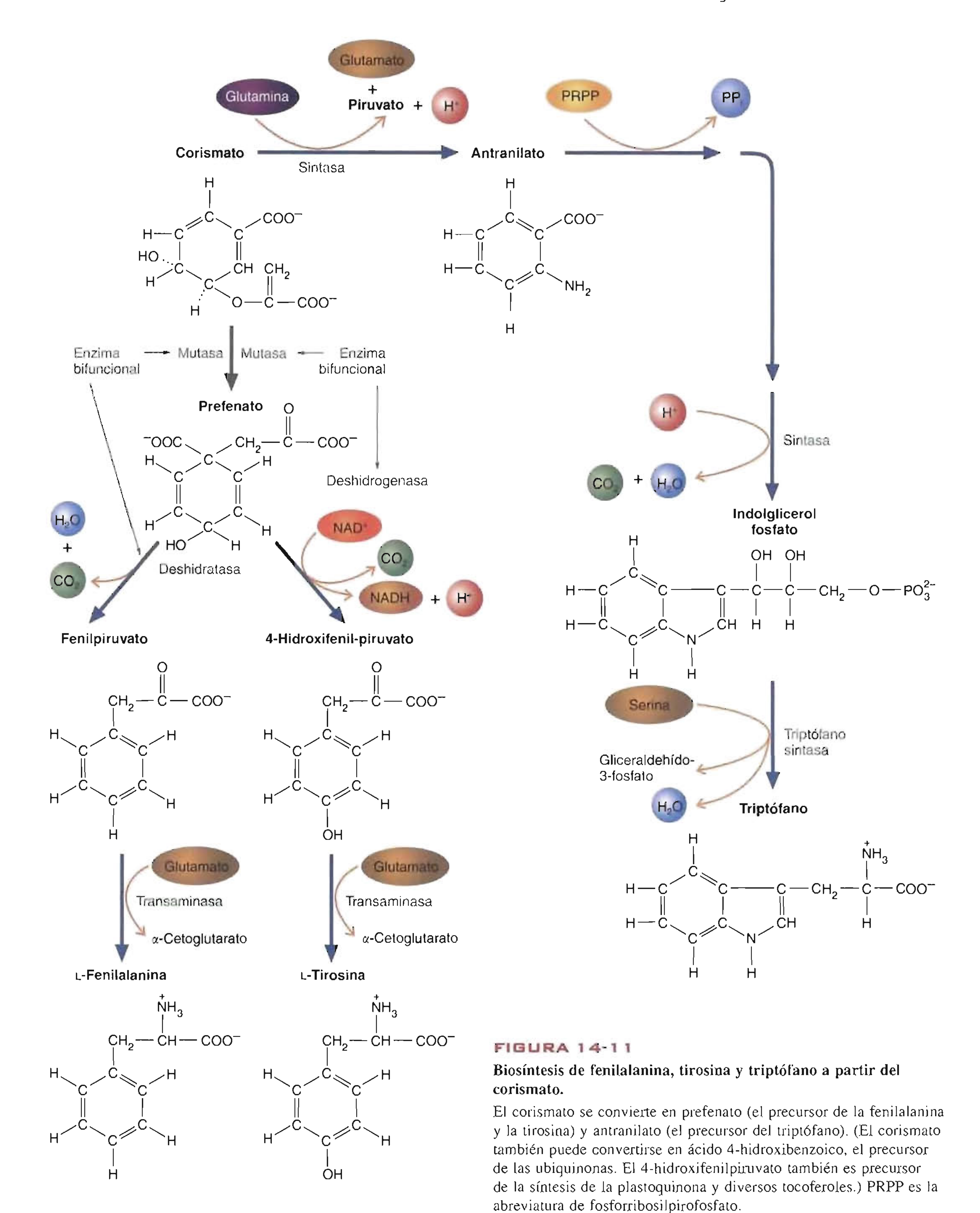


FIGURA 14-11

Biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano a partir del corismato.

El corismato se convierte en prefenato (el precursor de la fenilalanina y la tirosina) y antranilato (el precursor del triptófano). (El corismato también puede convertirse en ácido 4-hidroxibenzoico, el precursor de las ubiquinonas. El 4-hidroxifenilpiruvato también es precursor de la síntesis de la plastoquinona y diversos tocoferoles.) PRPP es la abreviatura de fosforribosilpirofosfato.

La Figura 14-11 ilustra la síntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano a partir de corismato. (El corismato también es precursor de la síntesis de los anillos aromáticos de los terpenoides mixtos, p. ej., tocoferoles, ubiquinonas y plastoquinonas).

La tirosina no es un aminoácido esencial en los animales debido a que se sintetiza a partir de la fenilalanina en una reacción de hidroxilación. La enzima que participa, la fenilalaina-4-monooxigenasa, requiere la coenzima tetrahidrobiopterina (Sección 14.3), una molécula semejante al ácido fólico que procede del GTP. Debido a que esta reacción es un primer paso del catabolismo de la fenilalanina, se considera posteriormente en el Capítulo 15.

HISTIDINA La histidina se considera que no es esencial en los seres humanos adultos sanos. En los niños y muchos animales, la histidina debe proporcionarla la alimentación. Debido a sus propiedades químicas singulares, la histidina contribuye sustancialmente a la estructura y función proteica. Por ejemplo, recuerde que los residuos de histidina se unen a los grupos prostéticos hemo de la hemoglobina. Además, la histidina actúa frecuentemente como un ácido general durante las reacciones enzimáticas. De todos los aminoácidos, la biosíntesis de histidina es la más inusual. La histidina se sintetiza a partir de fosforribosilpirofosfato (PRPP), ATP y glutamina (Fig. 14-12). La síntesis comienza con la condensación del PRPP con el ATP para formar fosforribosil-ATP. Posteriormente, el fosforribosil-ATP se hidroliza por la fosforribosil-ATP pirofosforilasa a fosforribosil-AMP. En el paso siguiente, una reacción hidrolítica abre el anillo de adenina. Tras una isomerización y la transferencia de un grupo amino de la glutamina, se sintetiza el imidazol glicerol fosfato. (El otro producto de la última reacción, el 5′-fosforribosil-4-carboxamida-5-aminoimidazol, se utiliza en la síntesis de los nucleótidos de purina. Véase la Sección 14.3.) La histidina se produce a partir de imidazol glicerol fosfato en una serie de reacciones que incluyen una deshidratación, una transaminación, una fosforólisis y una oxidación.

CONCEPTOS CLAVE 14.2

Existen seis familias de aminoácidos: glutamato, serina, aspartato, piruvato, aromáticos e histidina. Los aminoácidos no esenciales proceden de moléculas precursoras de las que disponen muchos organismos. Los aminoácidos esenciales se sintetizan a partir de metabolitos que sólo se producen en los vegetales y algunos microorganismos.

14.3. REACCIONES BIOSINTÉTICAS DE LOS AMINOÁCIDOS

Como se ha descrito, los aminoácidos son precursores de muchas moléculas nitrogenadas de importancia fisiológica, además de ser los bloques de construcción de los polipéptidos. En la exposición siguiente se describe la síntesis de varios ejemplos de estas moléculas (p. ej., neurotransmisores, glutatión, alcaloides, nucleótidos y hemo). Debido a que en muchos de estos procesos se produce la transferencia de grupos carbono, esta sección comienza con una breve descripción del metabolismo de un carbono.

Metabolismo de un carbono

Los átomos de carbono poseen varios estados de oxidación. Aquellos de interés biológico se encuentran en el metanol, el formaldehído y el formato. El Cuadro 14-2 da una relación de los grupos de un carbono equivalentes que realmente participan en las reacciones de síntesis.

Los transportadores de grupos de un carbono más importantes en las rutas biosintéticas son el ácido fólico y la S-adenosilmetionina. Se describe brevemente el metabolismo de cada uno de ellos. (La función de la biotina, un transportador de grupos CO_2, se presenta en la Sección 8.2.)

ÁCIDO FÓLICO El ácido fólico, que se conoce también como folato o folacina, es una vitamina B. Su estructura consta de un núcleo de pteridina y de ácido *para*-aminobenzoico, ligados a uno o varios residuos de ácido glutámico (Fig. 14-13). Una vez absorbido por el cuerpo, el ácido fólico se convierte por la dihidrofolato reductasa en la forma biológicamente activa, el ácido tetrahidrofólico (THF). Las unidades carbono que transporta el THF (es decir, grupos metilo, metileno, metenil y formil) están unidas al N^5 y/o N^{10} del anillo de pteridina. La Figura 14-14 ilustra las interconversiones de las unidades de un carbono que transporta el THF, así como su origen y destino metabólico. Un número sustancial de unidades de un carbono

Fosforribosilpirofosfato (PRPP)

ATP

PP_i

Fosforribosil-AMP

H_2O

H^+

A la ruta de biosíntesis de purinas

5-Fosforribosil-4-carboxamida-5-aminoimidazol

Glutamina

Glutamato

α-Cetoglutarato

Glutamato

Imidazol glicerol fosfato

H_2O

P_i

2 NADH + 2 H^+

2 NAD^+

Histidina

FIGURA 14-12

Biosíntesis de histidina.

La histidina se forma a partir de tres biomoléculas: PRPP (cinco carbonos), el anillo de adenina del ATP (un nitrógeno y un carbono) y la glutamina (un nitrógeno). El ATP que se utiliza en la primera reacción de la ruta se regenera cuando el 5-fosforribosil-4-carboxamida-5-aminoimidazol (que se libera en una reacción siguiente) se desvía a la ruta de biosíntesis de los nucleótidos de purina.

CUADRO 14-2

Grupos de un carbono

Nivel de oxidación	Metanol (más reducido)	Formaldehído	Formato (más oxidado)
Grupo de un carbono	Metil (—CH_3)	Metileno (—CH_2—)	Formil (—CHO) Metenil (—CH=)

Folato

NADPH + H^+ → $NADP^+$

Dihidrofolato

NADPH + H^+ → $NADP^+$

Tetrahidrofolato

FIGURA 14-13

Biosíntesis del tetrahidrofolato (THF).

La vitamina ácido fólico (folato) se convierte en su forma biológicamente activa mediante dos reducciones sucesivas del anillo de pteridina. Ambas reacciones están catalizadas por la dihidrofolato reductasa.

entran en la reserva de THF como N^5,N^{10}-metileno THF, producido durante la conversión de la serina en glicina y la rotura de la glicina (que cataliza la glicina sintasa).



En la Figura 14-14, se requiere la vitamina B_{12} para la conversión dependiente del N^5-metil THF de la homocisteína en metionina. La **vitamina B_{12}** (cobalamina) es una molécula compleja que contiene cobalto, que sólo sintetizan los microorganismos (Fig. 14-15). (Durante la purificación de la cobalamina, un grupo cianuro se une al cobalto.) Los animales obtienen la cobalamina de la flora intestinal y consumiendo alimentos que procedan de otros animales (p. ej., hígado, huevos, gambas, pollo y cerdo). Una deficiencia de vitamina B_{12} produce **anemia perniciosa**. Además de un recuento bajo de eritrocitos, los síntomas de esta enfermedad son debilidad y varios trastornos neurológicos. La anemia perniciosa suele estar producida por un descenso de la secreción de factor intrínseco, una glucoproteína que segregan las células del intestino, que se requiere para la absorción de la vitamina en el estómago. La absorción de la vitamina B_{12} puede también inhibirse por varias alteraciones gastrointestinales, como la celiaquía y el esprue tropical, que dañan el recubrimiento del intesti-

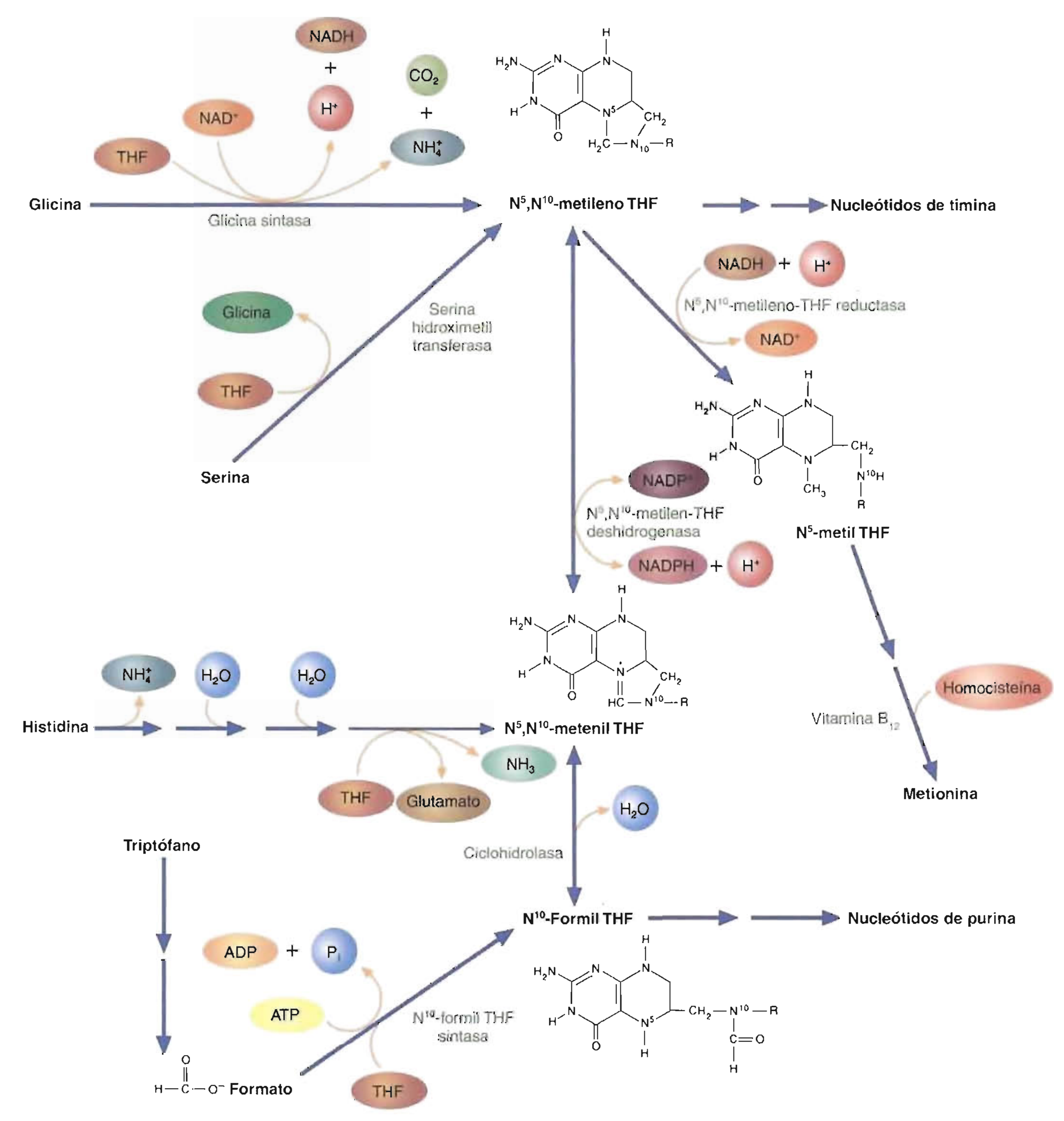


FIGURA 14-14

Estructuras e interconversiones enzimáticas de las coenzimas de THF.

Las coenzimas de THF desempeñan un papel esencial en el metabolismo de un carbono. Las interconversiones de las coenzimas son reversibles excepto la conversión de N^5,N^{10}- metileno THF en N^5-metil THF.

FIGURA 14-15

Estructura de la cianocobalamina, un derivado de la vitamina B_{12}.

H_2O + ATP → P_i + PP_i
S-Adenosilmetionina sintasa
Aceptores de metilo → Productos metilados
Metil transferasas

L-Metionina

S-Adenosilmetionina (SAM)

S-Adenosilhomocisteína (SAH)

FIGURA 14-16

Formación de S-adenosilmetionina.

Una de las funciones principales de la SAM es actuar como agente metilante.

no. Una reducción de la absorción de la vitamina B_{12} se ha observado también en presencia de un crecimiento excesivo de microorganismos en el intestino como consecuencia de los tratamientos con antibióticos.

S-ADENOSILMETIONINA La S-adenosilmetionina (SAM) es el principal donador de grupos metilo en el metabolismo de un carbono. Formada a partir de metionina y ATP (Fig. 14-16), la SMA contiene un grupo metil tioéter «activado», que puede transferirse a diversas moléculas aceptoras (Cuadro 14-3). La S-adenosil-

CONCEPTOS CLAVE 14.3

El tetrahidrofolato, la forma biológicamente activa del ácido fólico, y la S-adenosilmetionina son transportadores importantes de átomos de un carbono en diversas reacciones de síntesis.

CUADRO 14-3

Ejemplos de aceptores de productos de transmetilación

Aceptores de metilo	Productos metilados
Fosfatidiletanolamina	Fosfatidilcolina (pág. 341)
Noradrenalina	Adrenalina (pág. 480)
Guanidinoacetato	Creatina
Ácido γ-aminobutírico	Carnitina (pág. 379)

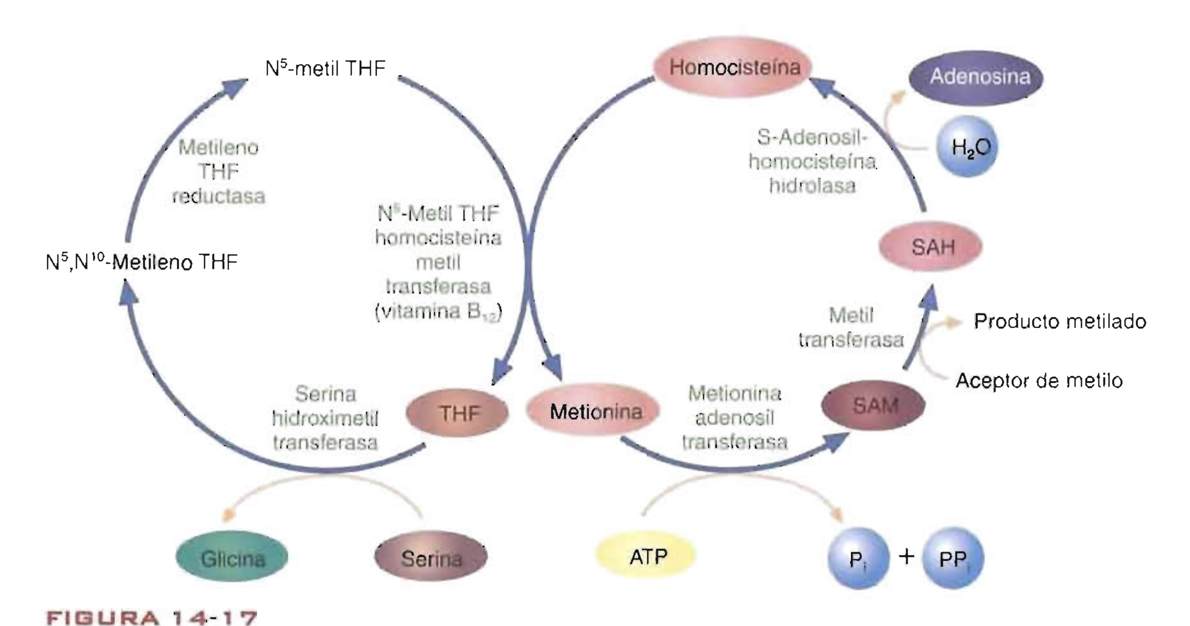


FIGURA 14-17

Rutas del tetrahidrofolato y de la S-adenosilmetionina.

Las rutas del THF y de la SAM se cruzan en la reacción que cataliza la N^5-metil THF homocisteína metiltransferasa, en la que la homocisteína se convierte en metionina.

homocisteína (SAH) es un producto de estas reacciones. La pérdida de energía libre que acompaña a la formación de S-adenosilhomocisteína hace irreversible la transferencia de metilo. La SAM actúa como donador de metilos en muchas reacciones de transmetilación, algunas de las cuales tienen lugar en la síntesis de fosfolípidos, varios neurotransmisores y glutatión.

La importancia de la SAM en el metabolismo queda reflejada en los diversos mecanismos que proporcionan la síntesis de cantidades suficientes de su precursor, la metionina, cuando la última molécula se encuentra temporalmente ausente de la alimentación. Por ejemplo, la colina se utiliza como fuente de grupos metilo para convertir la homocisteína en metionina. La homocisteína puede también metilarse en una reacción que utiliza N^5-metil THF. Esta última reacción es un puente entre las rutas del THF y de la SAM (Fig. 14-17).

PREGUNTA 14.5

Las siguientes sustancias se forman a partir de aminoácidos. Proporcione, para cada una de ellas, el nombre del aminoácido precursor.

a. $H_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-CH_2-C(=O)-O^-$

b. $H_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-$(5-hidroxiindol-3-il; anillo indol con N–H y OH)

c.

d.

e.

PREGUNTA 14.6

La **ametopterina**, que también se denomina **metotrexato**, es un análogo estructural del folato. (Los **análogos** son compuestos que se parecen mucho a otras moléculas.) El metotrexato se ha utilizado para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. Ha tenido un éxito especial en la leucemia de la infancia.



Ametopterina (metotrexato)

Con los conocimientos que tiene de biología celular y bioquímica, sugiera un mecanismo bioquímico que explique por qué la ametopterina es eficaz contra el cáncer. (*Pista*: Compare las estructuras del folato y el metotrexato. Revise la Figura 14-13.) Explique la razón por la que el tratamiento con metotrexato produce calvicie temporal.

PREGUNTA 14.7

La melatonina es una hormona que se forma a partir de la serotonina. Se produce en la glándula pineal del cerebro que es sensible a la luz. La secreción pineal de melatonina está inhibida por los impulsos nerviosos que se originan en la retina del ojo y otros tejidos corporales sensibles a la luz como respuesta a ésta. La función pineal participa en los *ritmos circadianos*, que son patrones de actividad asociados con la luz y la oscuridad, como los ciclos de sueño/vigilia. En muchos mamíferos, el funcionamiento de la glándula pineal regula también los ciclos estacionales de fertilidad e infertilidad. (La melatonina inhibe la secreción de determinadas hormonas del hipotálamo y la hipófisis que estimulan el funcionamiento de los ovarios y los testículos.) Por ejemplo, en algunas especies (p. ej., ciervo) los machos sólo son fértiles al comienzo de la primavera, asegurando que los animales recién nacidos serán lo suficientemente maduros para sobrevivir al invierno siguiente.

Tras producirse la serotonina en la glándula pineal, se convierte en 5-hidroxi-N-acetiltriptamina por la N-metil transferasa. Luego, la 5-hidroxi-N-acetiltriptamina se metila por la O-metil transferasa. La SAM es el agente metilante. Con esta información, escriba la ruta de síntesis de la melatonina.

PREGUNTA 14.8

La auxinas son una clase de reguladores vegetales del crecimiento. Las moléculas de auxina, que se sintetizan en el tejido meristemático (que crece activamente) como respuesta a la luz, difunden a las células próximas. Dependiendo de diversos parámetros (p. ej., concentración y localización), las auxinas pueden estimular o inhi-



bir el crecimiento celular. Por ejemplo, las auxinas estimulan el crecimiento en los tallos principales, pero inhiben el crecimiento en los tallos laterales. La auxina mejor conocida es el ácido indol-3-acético (AIA), que se forma a partir del triptófano.

CH_2COOH N H

Auxina
(ácido indol acético)

Compare la estructura del AIA con la del triptófano. Sugiera dos tipos de reacción de la síntesis del AIA.

PREGUNTA 14.9

Parece que la agresión oxidativa es el factor causal del daño cerebral que se produce en los accidentes cerebrovasculares, los traumatismos encefálicos y varias enfermedades neurológicas relacionadas con la edad (p. ej., enfermedad de Parkinson y enfermedad de Huntington). Existen también pruebas precisas de que los neurotransmisores excitadores como el glutamato contribuyen a la lesión cerebral. En un mecanismo destructor que no se comprende en su totalidad, el glutamato puede actuar como una excitotoxina; es decir, una liberación excesiva de glutamato excita las neuronas cercanas hasta destruirlas. En circunstancias normales, las neuronas se salvan del daño mediante los transportadores de glutamato, que eliminan el glutamato del espacio extracelular. El efecto excitotóxico del glutamato parece ser consecuencia de la incapacidad de los transportadores de glutamato. Se cree que realmente son el NO o su derivado oxidado anión peroxinitrito ($ONOO^-$) los causantes del daño. (El anión peroxinitrito se forma cuando el NO reacciona con el O_2^-. Una vez formado, el anión peroxinitrito se descompone rápidamente en •OH y NO_2.) Utilice sus conocimientos sobre la agresión oxidativa para sugerir cómo puede producirse el O_2^- en las células nerviosas. ¿Qué mecanismos de defensa tiene el cerebro para protegerse de la agresión oxidativa? ¿Por qué pueden proporcionar una protección inadecuada tras un accidente cerebrovascular o un traumatismo encefálico? Considerando el papel del NO en la función normal del glutamato en el cerebro, ¿por qué es esta molécula un factor tan letal en la agresión oxidativa excesiva?

Glutatión

El glutatión (γ-glutamilcisteinilglicina), una molécula nitrogenada, es el tiol intracelular más común. (Su concentración en las células de los mamíferos varía de 0.5 a 10 mM.) Las funciones del glutatión (GSH) son su participación en la síntesis de DNA y RNA y la síntesis de determinados eicosanoides y otras biomoléculas. (En muchos de estos procesos, el GSH actúa como reductor y, de esta forma, mantiene en un estado reducido los grupos sulfhidrilo de enzimas y otras moléculas.) Además de proteger a las células de la radiación, la toxicidad del oxígeno y las toxinas ambientales, el GSH impulsa también el transporte de los aminoácidos. Tras una breve consideración sobre su síntesis, se describe la actuación del GSH en el transporte, y posteriormente se describe una clase interesante de enzimas que se denominan glutatión-S-transferasas.

El GSH se sintetiza en una ruta formada por dos reacciones. En la primera reacción, la γ-glutamilcisteína sintasa cataliza la condensación del glutamato con la cisteína (Fig. 14-18). La γ-glutamilcisteína, el producto de esta reacción, se combina posteriormente con la glicina para formar GSH en una reacción catalizada por la glutatión sintasa.

TRANSPORTE El transporte del GSH fuera de las células parece tener varias funciones. Entre ella están (1) la transferencia de los átomos de azufre de la cisteína

γ-Glutamil transpeptidasa
γ-Glutamil transpeptidasa
Aminoácido
γ-Glu-Cys-gly
Cys-gly
γ-Glu-aminoácido
Membrana plasmática
Cys-gly
H_2O
Cisteína
+
Glicina
γ-Glu-aminoácido
γ-Glutamil ciclotransferasa
Aminoácido
5-Oxoprolina
Glutatión
ADP + P_i + H^+
ATP
Glutatión sintasa
Glicina
5-Oxoprolinasa
ATP + 2 H_2O
ADP + P_i + 2 H^+
L-Glutamato
γ-Glutamilcisteína
γ-Glutamilcisteína sintasa
L-Cisteína
ADP + P_i + H^+
ATP

FIGURA 14-18

Ciclo del γ-glutamilo.

Las funciones del ciclo del γ-glutamilo se describen en el texto. (1) El glutatión se elimina de la célula. La γ-glutamil transpeptidasa convierte el GSH en el derivado de aminoácido γ-Glu y Cys-Gly. (2) El ácido γ-Glu se transporta a la célula, donde se convierte en 5-oxoprolina y el aminoácido libre. La 5-oxoprolina finalmente se reconvierte en GSH. (3) El Cys-Gly se transporta a la célula, donde (4) se hidroliza a cisteína y glicina.

entre las células, (2) la protección de la membrana plasmática de la agresión oxidativa, y (3) la transferencia a la γ-glutamil transpeptidasa unida a la membrana para formar derivados γ-glutamilo de los aminoácidos. Este último proceso, que inicia el ciclo del γ-glutamilo, tiene lugar en las células del cerebro, el intestino, el páncreas, el hígado y el riñón.



El ciclo del γ-glutamilo da cuenta del transporte activo de varios aminoácidos, especialmente la cisteína y la metionina, así como del propio GSH. Algunos investigadores consideran dudosa la función del GSH en el transporte de los aminoácidos. Otro enfoque es que el ciclo del γ-glutamilo genera una señal que activa la captación de los aminoácidos. Se ha propuesto que la 5-oxoprolina es esta señal.

(Continúa en la pág. 482)

 Neurotransmisores

Se ha demostrado o se ha propuesto la actuación de más de 30 sustancias diferentes como neurotransmisores. Los **neurotransmisores** son excitadores o inhibidores. Como se ha señalado, los neurotransmisores excitadores (p. ej., glutamato y acetilcolina) abren los canales de sodio y estimulan la despolarización de la membrana en otra célula (bien otra neurona o una célula efectora, como una célula muscular). Si la segunda célula (postsináptica) es una neurona, la onda de despolarización (que se denomina potencial de acción) desencadena la liberación de moléculas neurotransmisoras al alcanzar el extremo del axón. (La mayoría de las moléculas de neurotransmisores se almacenan en numerosas *vesículas sinápticas* encerradas por membranas.) Cuando el potencial de acción alcanza la terminación nerviosa, las moléculas del neurotransmisor se liberan por exocitosis en la sinapsis. Si la célula postsináptica es una célula muscular, la liberación suficiente de moléculas del neurotransmisor excitador produce la contracción muscular. Los neurotransmisores inhibidores (p. ej., glicina) abren los canales de cloruro y hacen más negativo el potencial de membrana de la célula postsináptica, es decir, inhiben la formación de un potencial de acción.

Un porcentaje significativo de las moléculas neurotransmisoras son o bien aminoácidos o bien derivados de aminoácidos (Cuadro 14-4).

CUADRO 14-4
Aminoácidos y neurotransmisores aminados

Aminoácidos	Aminas
Glicina	Noradrenalina*
Glutamato	Adrenalina*
Ácido γ-aminobutírico (GABA)	Dopamina*
	Serotonina
	Histamina

* Estas moléculas se denominan catecolaminas.

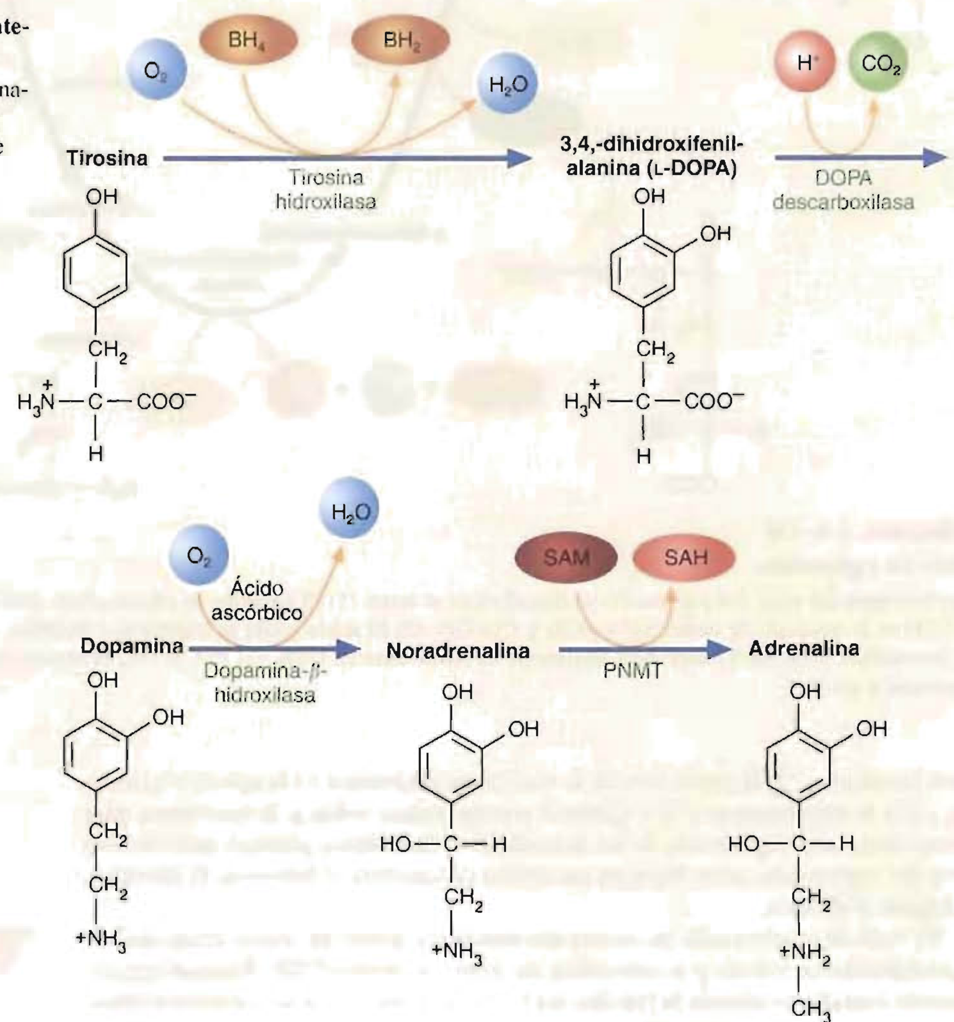
La última clase suele denominarse **aminas biógenas**. Tras una breve consideración de varias aminas biógenas, se describen las propiedades del óxido nítrico, un neurotransmisor descubierto recientemente.

Ácido γ-aminobutírico

El *ácido γ-aminobutírico* (GABA) actúa como un neurotransmisor inhibidor en el sistema nervioso central. La unión del GABA a su receptor aumenta la permeabilidad de la membrana de la célula nerviosa a

FIGURA 14A **Biosíntesis de las catecolaminas.**

La dopamina, la noradrenalina y la adrenalina actúan como neurotransmisores y/o hormonas. (PNMT es una abreviatura de feniletanolamina-N-metiltransferasa).



los iones cloruro. (Las benzodiacepinas, una clase de tranquilizantes que alivian la ansiedad y el comportamiento agresivo, potencian la capacidad del GABA para aumentar la conductancia de la membrana al cloruro.)

El GABA se produce por descarboxilación del glutamato. La reacción está catalizada por la glutamato descarboxilasa, que es una enzima que requiere piridoxal fosfato:

$$H_3\overset{+}{N}-CH(COO^-)-CH_2-CH_2-COO^- \xrightarrow[H^+ \;\; CO_2]{\text{Glutamato descarboxilasa}} {}^{+}NH_3-CH_2-CH_2-CH_2-COO^-$$

Glutamato → **Ácido γ-aminobutírico (GABA)**

Catecolaminas

Las *catecolaminas* (dopamina, noradrenalina y adrenalina) son derivados de la tirosina. La dopamina (D) y la noradrenalina (NA) se utilizan en el cerebro como neurotransmisores excitadores. Fuera del sistema nervioso central, la NA y la adrenalina (A) se liberan principalmente por la médula suprarrenal, así como por el sistema nervioso periférico. La NA y la A suelen considerarse hormonas, ya que regulan diversos aspectos del metabolismo.

El primer paso de la síntesis de catecolaminas, que además es el que limita la velocidad, es la hidroxilación de la tirosina para formar 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) (Fig. 14A). La tirosina hidroxilasa, la enzima mitocondrial que cataliza la reacción, requiere un cofactor conocido como *tetrahidrobiopterina* (BH_4). (El BH_4, una molécula análoga al ácido fólico, es un cofactor esencial en la hidroxilación de los aminoácidos aromáticos. El BH_4 se regenera a partir de su metabolito oxidado, BH_2, por reducción con NADPH.)

La tirosina hidroxilasa utiliza BH_4 para activar al O_2. Un átomo de oxígeno está unido al anillo aromático de la tirosina, mientras que el otro átomo oxida la coenzima. La DOPA, el producto de la reacción, se utiliza en la síntesis de otras catecolaminas.

La DOPA descarboxilasa, una enzima que requiere piridoxal fosfato, cataliza la síntesis de dopamina a partir de DOPA. La dopamina se produce en las neuronas que se encuentran en determinadas estructuras del encéfalo. Se cree que ejerce una acción inhibitoria dentro del sistema nervioso central. La deficiencia de la producción de dopamina se ha asociado a la enfermedad de Parkinson, una enfermedad neurológica degenerativa grave (Recuadro de Interés Especial 14.3). La L-DOPA precursora se utiliza para mejorar los síntomas de la enfermedad de Parkinson debido a que la dopamina no puede atravesar la barrera hematoencefálica. (La barrera hematoencefálica protege al cerebro de las sustancias tóxicas. Muchas moléculas polares e iones no pueden moverse desde los capilares sanguíneos, aunque la mayoría de las sustancias liposolubles los atraviesan fácilmente. La barrera hematoencefálica está formada por tejido conjuntivo y células especializadas denominadas astrocitos que envuelven a los capilares). Una vez que la L-DOPA se ha transportado a las células nerviosas adecuadas, se convierte en dopamina.

La noradrenalina se sintetiza a partir de la tirosina en las células cromafines de la médula suprarrenal en respuesta al susto, el frío y el ejercicio, así como a las concentraciones bajas de glucosa. La NA estimula la degradación de los triacilgliceroles y del glucógeno. También aumenta el gasto cardíaco y la tensión sanguínea. La hidroxilación de la dopamina para producir NA está catalizada por la enzima que contiene cobre dopamina-β-hidroxilasa, una oxidasa que para ser totalmente activa requiere el antioxidante ácido ascórbico.

Dihidrobiopterina (forma oxidada) BH_2 $\rightleftharpoons$ (NADPH + H^+ → $NADP^+$) **Tetrahidrobiopterina** (forma reducida) BH_4

Como se ha descrito, la secreción de adrenalina como respuesta al estrés, los traumatismos, el ejercicio extremo o la hipoglucemia produce una movilización rápida de las reservas energéticas, es decir, la glucosa del hígado y los ácidos grasos del tejido adiposo. La reacción en la que se metila la NA para formar A está intermediada por la enzima feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT). Aunque la enzima existe predominantemente en las células cromafines de la médula suprarrenal, también se encuentra en determinadas porciones del encéfalo donde la A actúa como neurotransmisor. Las pruebas más recientes indican que tanto la A como la NA están presentes en otros órganos (p. ej., hígado, corazón y pulmones). La PNMT es una proteína monómera (30 kD) que utiliza SAM como fuente de grupos metilo.

Serotonina

La serotonina se encuentra en varias células dentro del sistema nervioso central, donde inhibe la alimentación. La serotonina se ha implicado en los trastornos alimentarios humanos como la anorexia nerviosa, la bulimia y el ansia de hidratos de carbono que se asocia con el trastorno afectivo estacional (TAE). El TAE es una de-

(continúa en la pág. 482)

Triptófano → 5-Hidroxitriptófano → 5-Hidroxitriptamina (serotonina)

presión clínica que se desencadena por el descenso de la luz del día en el otoño y el invierno. Además, la serotonina parece afectar al comportamiento, la regulación de la temperatura, la percepción del dolor y el sueño. La droga alucinógena LSD (dietilamida del ácido lisérgico) aparentemente compite con la serotonina por receptores encefálicos específicos. La serotonina se encuentra también en el tubo digestivo, las plaquetas sanguíneas y los mastocitos.

La triptófano hidroxilasa utiliza O_2 y el donador de electrones BH_4 para hidroxilar el C-5 del triptófano. El producto, que se denomina 5-hidroxitriptófano, experimenta posteriormente una descarboxilación que cataliza la 5-hidroxitriptófano descarboxilasa, una enzima que requiere piridoxal fosfato. La serotonina, a la que a veces se denomina 5-hidroxitriptamina, es el producto de esta reacción.

Histamina

La histamina, una amina que se produce en numerosos tejidos del cuerpo, tiene efectos fisiológicos complejos. Es un mediador de las reacciones alérgicas e inflamatorias, un estimulador de la producción de ácido gástrico, y un neurotransmisor en diversas áreas del encéfalo. La histamina se forma por la descarboxilación de la L-histidina en una reacción que cataliza la histidina descarboxilasa, una enzima que requiere piridoxal fosfato.

Histidina → (Histidina descarboxilasa) → Histamina

Óxido nítrico

Además de las muchas funciones del óxido nítrico (Recuadro de Interés Especial 10.1), también es un neurotransmisor. El óxido nítrico (NO), que se sintetiza a partir del aminoácido arginina por la NO sintasa (Fig. 10A), se produce en muchas áreas del encéfalo, donde su formación se ha ligado a la función neurotransmisora del glutamato. Cuando se libera el glutamato de una neurona y se une a una determinada clase de receptor de glutamato, se desencadena un flujo transitorio de Ca^{2+} a través de la membrana postsináptica que estimula la síntesis de NO. Una vez sintetizado, el NO vuelve por difusión a la célula presináptica, donde señaliza una posterior liberación de glutamato. En otras palabras, el NO actúa como un, así denominado, neurotransmisor retrógrado; es decir, estimula un ciclo en el que se libera el glutamato de la neurona presináptica y luego se une para dar lugar a potenciales de acción en las neuronas postsinápticas. Este mecanismo potenciador se cree actualmente que actúa en el aprendizaje y en la formación de la memoria, así como en otras funciones del encéfalo de los mamíferos.

CONCEPTOS CLAVE 14.4

El glutatión (GSH), el tiol intracelular más común, participa en muchas actividades celulares. Además de reducir a los grupos sulfhidrilo, el GSH protege a las células contra las toxinas y promueve el transporte de algunos aminoácidos.

Varias enfermedades humanas están asociadas con deficiencias del metabolismo del GSH. Una de las más notables es la *deficiencia de GSH sintasa* (conocida también como *5-oxoprolinuria*). La deficiencia de GSH sintasa se caracteriza por acidosis grave, hemólisis (destrucción de los eritrocitos) y daños del sistema nervioso central. Debido a la deficiencia enzimática, aumenta la concentración de γ-glutamilcisteína. Esta molécula se convierte posteriormente en 5-oxoprolina y cisteína por la γ-glutamil ciclotransferasa. La producción de 5-oxoprolina supera pronto la capacidad de la oxoprolinasa para convertirla en glutamato.

Como consecuencia, comienza a aumentar la concentración de 5-oxoprolina en sangre.

GLUTATIÓN-S-TRANSFERASAS Como se ha mencionado, el GSH contribuye a la protección de las células de las toxinas ambientales. El GSH hace esto reaccionando con una gran variedad de moléculas ajenas para formar conjugados de GSH (Fig. 14-19). La unión de estas sustancias con el GSH, que las prepara para su eliminación, puede ser espontánea, o puede estar catalizada por las GSH-S-transferasas (que también se conocen como *ligandinas*). Antes de eliminarse en la orina, los conjugados de GSH normalmente se convierten en ácidos mercaptúricos mediante una serie de reacciones iniciadas por la γ-glutamil transpeptidasa.

Alcaloides

Los **alcaloides** son un grupo grande y heterogéneo de moléculas nitrogenadas que producen las hojas, las semillas o la corteza de algunas plantas. Se forman a partir de los α-aminoácidos (o moléculas relacionadas con ellos) en rutas complejas y no bien conocidas. Aunque muchos alcaloides tienen propiedades fisiológicas profundas cuando los consumen los animales, sus funciones en las plantas son relativamente desconocidas. Dado que suelen tener sabores amargos o ser venenosos, los alcaloides pueden proteger a las plantas de los herbívoros, los insectos y los microbios. En la Figura 14-20 se dan varios ejemplos de este grupo de productos naturales.

Los alcaloides se clasifican de acuerdo con sus anillos heterocíclicos. Por ejemplo, la cocaína, un estimulante del sistema nervioso central, y la atropina, un relajante muscular, son ejemplos de *alcaloides de tropano*, en los que el nitrógeno se encuentra en un puente de una estructura de anillo de siete eslabones. La nicotina, el compuesto tóxico y adictivo del tabaco, es un ejemplo de *alcaloides de piridina*, en los que se encuentra un nitrógeno como miembro de un anillo aromático de seis átomos. (La nicotina es un insecticida eficaz.) Los componentes adictivos del opio

Atropina

Nicotina

Codeína

Morfina

FIGURA 14-20

Estructuras de varios alcaloides.

Se han aislado de las plantas más de 5000 alcaloides. Sus funciones en las plantas generalmente son desconocidas. Los alcaloides suelen ser moléculas fisiológicamente potentes en los mamíferos.

FIGURA 14-19

Formación de un derivado del ácido mercaptúrico de un contaminante orgánico típico.

La GSH-S-transferasa cataliza la síntesis de un derivado de GSH del diclorobenceno.

Diclorobenceno
+
GSH
GSH-S-transferasa
HCl
γ-Glutamil transpeptidasa
Glutamato
Dipeptidasa
Glicina
Acetil-CoA
N-Acetilasa
CoASH

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 14.3. Enfermedad de Parkinson y dopamina

La enfermedad de Parkinson, que anteriormente se denominaba *paralysis agitans*, es un trastorno del movimiento que produce la lesión de estructuras encefálicas que se denominan ganglios basales y sustancia negra. Los síntomas de la enfermedad de Parkinson, que se observa en los adultos de más de 40 años, son temblores, rigidez de los músculos esqueléticos y dificultad para iniciar los movimientos. La incapacidad de determinadas neuronas de la sustancia negra para producir y liberar dopamina se cree que es la causa primaria de la enfermedad de Parkinson. (La dopamina que se produce en la sustancia negra actúa normalmente inhibiendo la actividad nerviosa dentro de los ganglios basales.) Como se ha señalado, debido a que la dopamina no atraviesa la barrera hematoencefálica protectora, la molécula precursora L-DOPA (que también se conoce como levodopa) se utiliza para tratar a los pacientes con Parkinson).

A finales de los años 1970, un indicio sustancial sobre la causa de la destrucción de las células nerviosas en la enfermedad de Parkinson lo proporcionaron jóvenes adictos a las drogas que utilizaban el sustituto sintético de la heroína MPPP (1-metil-4-fenil-4-proprionoxipiperidina) (Fig. 14B). A varias personas desafortunadas que posteriormente se supo que habían consumido MPPP, se les diagnosticó enfermedad de Parkinson a pesar de su juventud y de carecer de antecedentes familiares de la enfermedad. Una investigación extensa descubrió que en determinadas condiciones de reacción, la síntesis de MPPP da lugar a un producto tóxico secundario denominado MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidroxipiridina). Una vez consumido, el MPTP se convierte en el encéfalo en MPP^+ (1-metil-4-fenilpiridinio) por la enzima monoamina oxidasa. Tras su síntesis, el MPP^+ se transporta por un mecanismo de transporte específico de la dopamina a determinadas neuronas. Aunque no se entiende bien el mecanismo por el que se destruyen las células nerviosas por el MPP^+, parece que uno de sus efectos es inhibir la NADH deshidrogenasa, un componente del complejo de transporte electrónico mitocondrial.

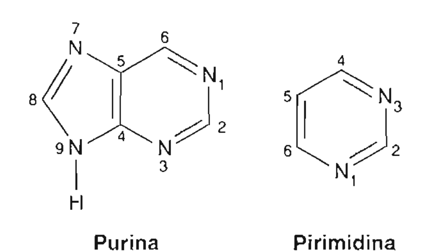
MPPP MPTP MPP^+

FIGURA 14B Formación de MPP^+, una neurotoxina.
El MPPP, que también se denomina meperidina, es un analgésico sintético con propiedades semejantes a las de la morfina. Si la reacción química que se utiliza para sintetizar el MPPP no se regula cuidadosamente, se produce un producto tóxico secundario. Cuando esta última molécula, el MPTP, se consume de forma inadvertida, se convierte en el cerebro en MPP^+, un agente neurotóxico, en una reacción de oxidación que cataliza la monoamina oxidasa (véase la pág. 517).

(codeína y morfina) son ejemplos de *alcalodes de isoquinolina*, en los que aparece un nitrógeno en un anillo de un sistema de varios anillos.

Nucleótidos

Los nucleótidos son moléculas nitrogenadas complejas necesarias para el crecimiento y la diferenciación celular. Los nucleótidos no sólo son los bloques de construcción de los ácidos nucleicos, sino que también desempeñan funciones esenciales en las transformaciones energéticas y regulan muchas rutas metabólicas. Como se ha descrito, los nuleótidos están formados por tres partes: una base nitrogenada, un azúcar pentosa y uno o varios grupos fosfato. Las bases nitrogenadas derivan de purina o pirimidina, que son compuestos heterocíclicos aromáticos planos.



Entre las **purinas** naturales comunes se encuentran la adenina, la guanina, la xantina y la hipoxantina; la timina, la citosina y el uracilo son **pirimidinas** comunes (Fig. 14-21). Las purinas y las pirimidinas absorben luz UV debido a sus estructuras aromáticas. A pH 7, esta absorción es especialmente intensa a 260 nm. Las bases púricas y pirimidínicas tienen formas tautómeras; es decir, experimentan desviacio-

Adenina
(a)
Guanina
Xantina
Hipoxantina

Timina
(b)
Citosina
Uracilo

FIGURA 14-21
Purinas (a) y pirimidinas (b) naturales más comunes.

nes espontáneas de las posiciones relativas de un átomo de hidrógeno y un doble enlace en una secuencia de tres átomos que implica heteroátomos. Esta propiedad es especialmente importante debido a que la localización precisa de los átomos de hidrógeno y nitrógeno afecta a las interacciones de las bases en las moléculas de ácidos nucleicos. La adenina y la citosina tienen ambas formas amino e imino; la guanina, la timina y el uracilo tienen ambas formas ceto (lactama) y enol (lactima) (Fig. 14-22). A pH fisiológico, las formas más estables son las amino y las ceto.

Cuando una base púrica o pirimidínica está ligada por un enlace β-N-glucosídico al C-1 de un azúcar pentosa, la molécula se denomina **nucleósido**. En los nucleósidos se encuentran dos tipos de azúcares: ribosa y desoxirribosa. Los nucleósidos que contienen ribosa con adenina, guanina, citosina y uracilo se denominan, respectivamente, adenosina, guanosina, citidina y uridina. Cuando el azúcar componente es la desoxirribosa, se emplea el prefijo *desoxi*. Por ejemplo, el desoxinucleósido con adenina se denomina desoxiadenosina. Debido a que la base timina normalmente sólo se encuentra en los desoxirribonucleósidos, la desoxitimidina se denomina timidina. La posible confusión en la identificación de los átomos de la base y del azúcar se evita utilizando un superíndice prima para señalar los átomos del azúcar.

Enlace-β-glucosídico

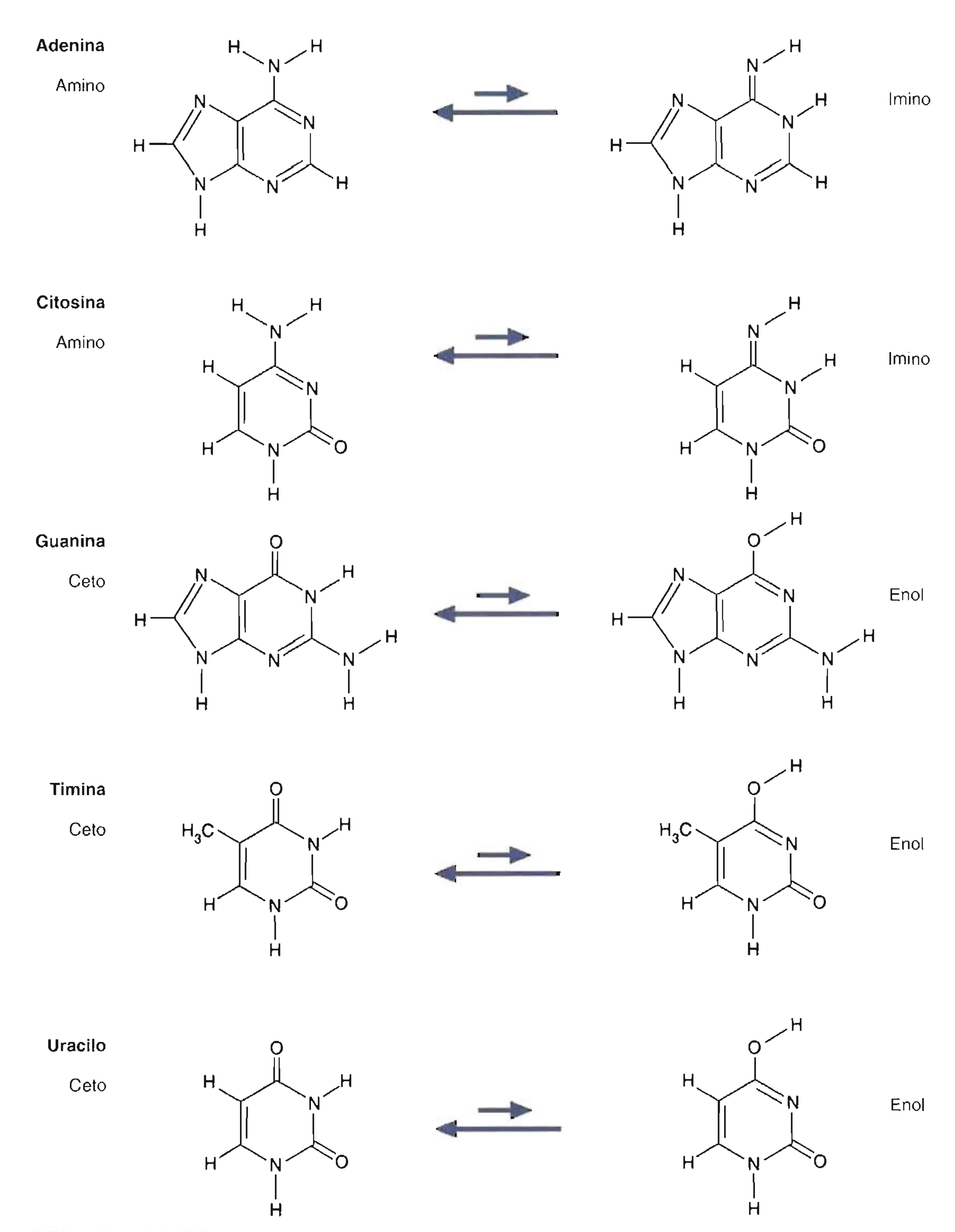


FIGURA 14-22

Tautómeros de adenina, citosina, guanina, timina y uracilo.

A pH fisiológico, los tautómeros amino y ceto de las bases nitrogenadas son las formas predominantes.

El giro alrededor de los enlaces N-glucosídicos de los nucleósidos crea dos conformaciones: *sin* y *anti*. Los nucleósidos de purina se encuentran en las formas *sin* y *anti*. En los nucleósidos de pirimidina predomina la conformación *anti* debido al impedimento estérico entre el azúcar pentosa y el oxígeno del carbonilo de C-2.

Anti-Adenosina

Sin-Adenosina

Anti-Uridina

Los nucleótidos son nucleósidos en los que unidos al azúcar se encuentran uno o varios grupos fosfato (Fig. 14-23). La mayoría de los nucleótidos naturales son ésteres 5'-fosfato. Si un grupo fosfato está unido al carbono 5' del azúcar, la molécula se denomina nucleótido monofosfato, p. ej., adenosina-5'-monofosfato (AMP). Los

Adenosina-5'-monofosfato (AMP)

Guanosina-5'-monofosfato (GMP)

Citidina-5'-monofosfato (CMP)

Uridina-5'-monofosfato (UMP)

Inosina-5'-monofosfato (IMP)

(a)

FIGURA 12-23

Ribonucleótidos (a) y desoxirribonucleótidos (b) comunes.

Los nombres de los nucleótidos que contienen desoxirribosa y timina no tienen el prefijo *desoxi*. La inosina-5'-monofosfato (IMP) es un intermediario en la síntesis de los nucleótidos de purina. La base componente del IMP es la hipoxantina.

FIGURA 14-23
Continuación

Desoxiadenosina-5'-monofosfato (dAMP)

Timidina-5'-monofosfato (dTMP)

Desoxiguanosina-5'-monofosfato (dGMP)

Desoxicitidina-5'-monofosfato (dCMP)

(b)

nucleótidos di y trifosfato contienen dos o tres grupos fosfato, respectivamente. Los grupos fosfato hacen a los nucleótidos muy ácidos. (A pH fisiológico, los protones se disocian de los grupos fosfato.) Debido a su naturaleza ácida, los nucleótidos también pueden nombrarse como ácidos. Por ejemplo, el AMP se denomina ácido adenílico o adenilato. Los nucleósidos di y trifosfato forman complejos con el Mg^{2+}. En los nucleósidos trifosfato como el ATP, el Mg^{2+} puede formar complejos α,β y β,γ:

Los nucleótidos de purina y pirimidina pueden sitetizarse en rutas *de novo* y de salvamento. A continuación se describen estas rutas.

NUCLEÓTIDOS DE PURINA La síntesis *de novo* de los nucleótidos de purina comienza con la formación del 5-fosfo-α-D-ribosil-1-pirofosfato (PRPP) catalizada por la ribosa-5-fosfato pirofosfoquinasa (PRPP sintetasa).

α-D-Ribosa-5-fosfato + ATP —(Ribosa-5-fosfato pirofosfoquinasa)→

5-Fosto-α-D-ribosil-1-pirofosfato (PRPP) + AMP

(El sustrato de esta reacción, la α-D-ribosa-5-fosfato, es un producto de la ruta de las pentosas fosfato.) La Figura 14-24 presenta la fase inicial de la ruta en la que el PRPP se convierte en inosina monofosfato (inosinato), el primer nucleótido de purina. El proceso comienza con el desplazamiento del grupo pirofosfato del PRPP por el nitrógeno amida de la glutamina, en una reacción catalizada por la glutamina PRPP amidotransferasa. Esta reacción es el paso que canaliza la síntesis de purinas. El producto que se forma es la 5-fosfo-β-D-ribosilamina.

Una vez formada la 5-fosfo-β-D-ribosilamina, comienza la construcción de la estructura del anillo de purina. La fosforribosilglicinamida sintasa cataliza la formación de un enlace amida entre el grupo carboxilo de la glicina y el grupo amino de la 5-fosfo-β-D-ribosilamina. En las ocho reacciones siguientes se forma el IMP, que es el primer nucleótido de purina. Otros precursores de la base componente del IMP (hipoxantina) son el CO_2, el aspartato y el N^{10}-formil THF. Esta ruta requiere la hidrólisis de cuatro moléculas de ATP.

La conversión de IMP en adenosina monofosfato (AMP o adenilato) o guanosina monofosfato (GMP o guanilato) requiere dos reacciones (Fig. 14-25).

El AMP sólo se diferencia del IMP en un aspecto: Un grupo amino sustituye a un oxígeno ceto. El nitrógeno amino que proporciona el aspartato se une al IMP en una

(continúa en la pág. 492)

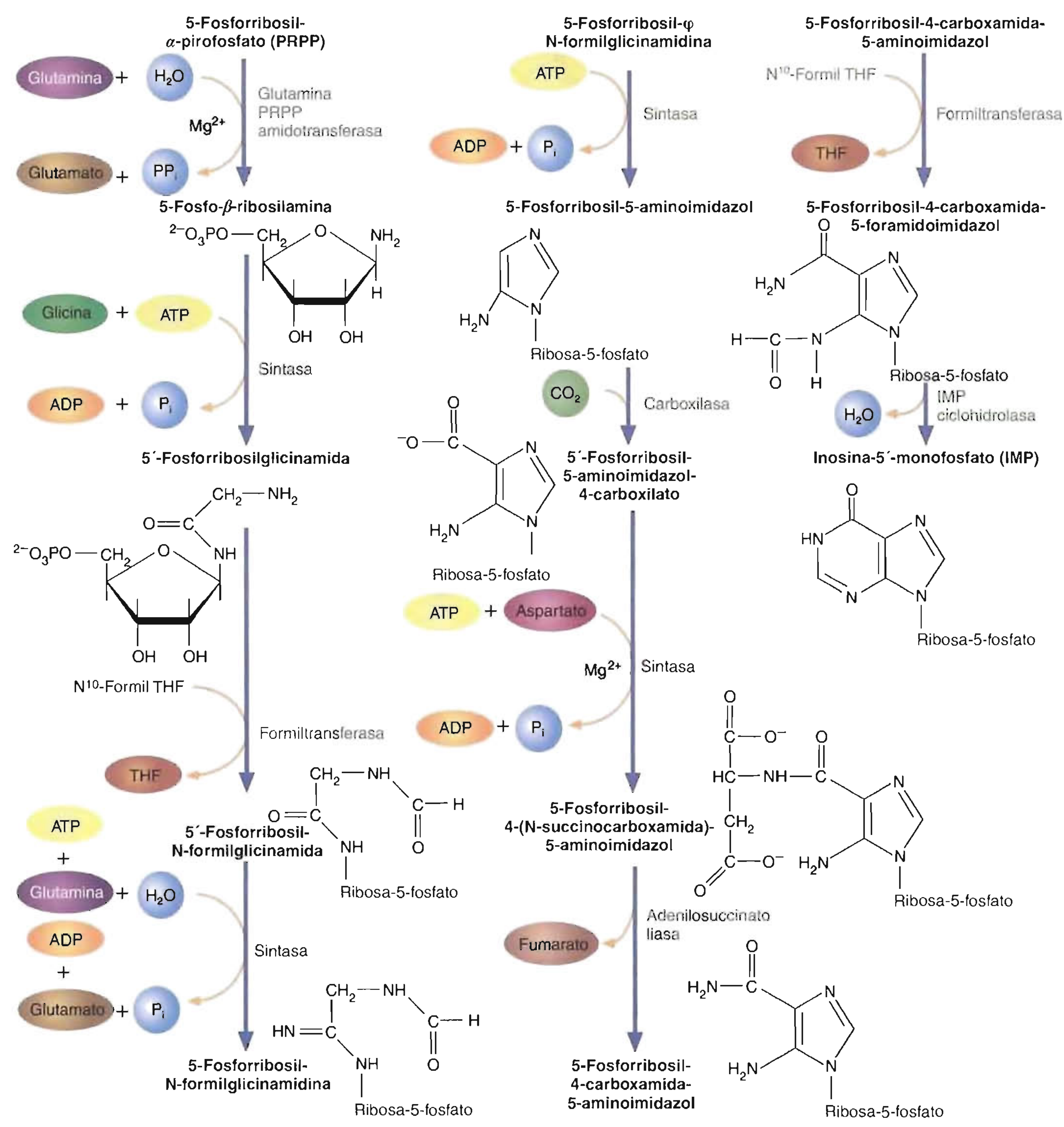


FIGURA 14-24

Síntesis de la inosina-5′-monofosfato.

La biosíntesis del IMP comienza con la reacción entre un grupo amino de la glutamina con el C-1 del PRPP. El producto, la 5-fosfo-β-ribosilamina, experimenta a continuación un conjunto de reacciones en las que se construye el anillo de purina utilizando átomos de carbono del formato (por el N^{10}-formil THF) y CO_2, y átomos de nitrógeno de la glicina, la glutamina y el aspartato.

FIGURA 14-25

Biosíntesis de AMP y de GMP a partir de IMP.

En el primer paso de la síntesis de AMP, el oxígeno ceto de C-6 de la base hipoxantina del IMP se sustituye por el grupo amino del aspartato. En el segundo paso, el producto de la primera reacción, el adenilosuccinato, se hidroliza para formar AMP y fumarato. La síntesis de GMP comienza con la oxidación del IMP para formar XMP. El GMP se produce al sustituirse el oxígeno ceto de C-2 del XMP por el nitrógeno amida de la glutamina. Obsérvese que la formación de AMP necesita GTP y la formación de GMP necesita ATP.

reacción que requiere GTP, que cataliza la adenilosuccinato sintasa. En el paso, el producto adenilosuccinato elimina fumarato para formar AMP. (La enzima que cataliza esta reacción cataliza también un paso semejante en la síntesis de IMP.) La conversión de IMP en GMP comienza con una deshidrogenación que utiliza NAD^+ catalizada por la IMP deshidrogenasa. El producto se denomina xantosina monofosfato (XMP). Éste se convierte a continuación en GMP por la cesión de un nitrógeno amino por la glutamina en una reacción que requiere ATP y que cataliza la GMP sintasa.

Los nucleósidos trifosfato son los nucleótidos que se utilizan habitualmente en el metabolismo. Recuerde que el ATP se sintetiza a partir de ADP y P_i durante determinadas reacciones de la glucólisis y el metabolismo aerobio. El ADP se sintetiza a partir de AMP en una reacción que cataliza la adenilato quinasa:

$$\text{AMP} + \text{ATP} \longrightarrow 2\ \text{ADP}$$

Otros nucleósidos trifosfato se sintetizan mediante reacciones que requieren ATP, catalizadas por un conjunto de nucleósido monofosfato quinasas:

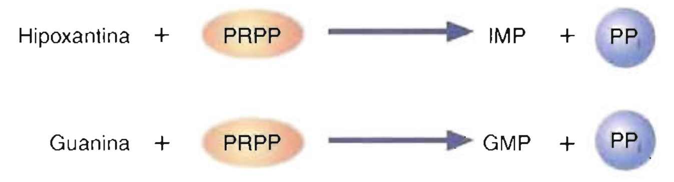
$$\text{NMP} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{NDP} + \text{ADP}$$

Las nucleósido difosfato quinasas catalizan la formación de nucleósidos trifosfato:

$$N_1\text{DP} + N_2\text{TP} \rightleftharpoons N_1\text{TP} + N_2\text{DP}$$

donde N_1 y N_2 son bases púricas o pirimidínicas.

En la ruta de salvamento de purinas, las bases púricas obtenidas a partir del recambio normal de los ácidos nucleicos celulares o (en menor medida) a partir de la alimentación se reconvierten en nucleótidos. Debido a que la síntesis *de novo* de los nucleótidos es metabólicamente costosa (es decir, se utilizan cantidades relativamente grandes de energía de enlace fosforilo), muchas células poseen mecanismos para recuperar las bases púricas. La hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HGPRT) cataliza la síntesis de nucleótidos utilizando PRPP e hipoxantina o guanina. La hidrólisis del pirofosfato hace estas reacciones irreversibles.





La deficiencia de HGPRT produce el *síndrome de Lesch-Nyhan*, una enfermedad devastadora que se caracteriza por la producción excesiva de ácido úrico (Sección 15.3) y determinados síntomas neurológicos (automutilaciones, movimientos involuntarios y retraso mental). Los niños afectados parecen normales al nacer pero comienzan a deteriorarse a los 3 ó 4 meses de edad.

La adenina fosforribosil transferasa (ARPT) cataliza la transferencia de adenina al PRPP, formando así AMP:



No está clara cuál es la importancia relativa de las rutas *de novo* y de salvamento. Sin embargo, los síntomas graves de la deficiencia hereditaria de HGPRT indican que la ruta de salvamento de las purinas es de importancia vital. Además, las investigaciones de los inhibidores de la síntesis de los nucleótidos de purina para el tratamiento del cáncer indican que ambas rutas deben inhibirse para suprimir de forma significativa el crecimiento del tumor.



En la Figura 14-26 se resume la regulación de la biosíntesis de los nucleótidos de purina. La ruta está controlada en un grado considerable por la disponibilidad de PRPP. Varios productos de la ruta inhiben la ribosa-5-fosfato pirofosforilasa quinasa

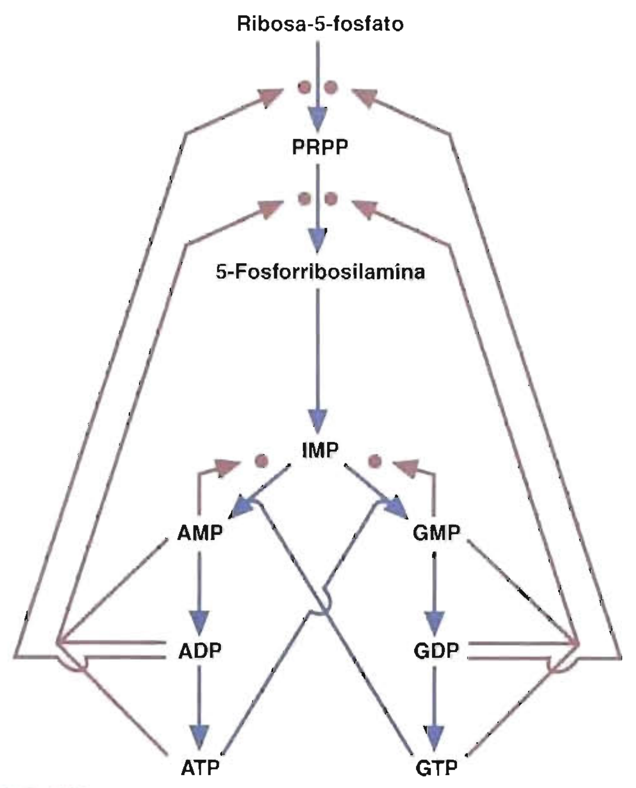


FIGURA 14-26

Regulación de la biosíntesis de los nucleótidos de purina.

La retroinhibición está indicada por flechas rojas. La estimulación de la síntesis de AMP por el GTP, y la síntesis de GMP por el ATP, garantiza una síntesis equilibrada de ambas familias de nucleótidos de purina.

y la glutamina-PRPP amidotransferasa. El efecto inhibitorio combinado de los productos finales es sinérgico (es decir, la inhibición neta es mayor que la inhibición única de cada uno de los nucleótidos). En el punto de ramificación del IMP, tanto el AMP como el GMP regulan su propia síntesis mediante retroinhibición de la adenilosuccinato sintasa y la IMP deshidrogenasa. La hidrólisis del GTP impulsa la síntesis de adenilosuccinato, mientras que el ATP impulsa la síntesis del XMP. Esta disposición recíproca se cree que facilita el mantenimiento de las concentraciones celulares adecuadas de los nucleótidos de adenina y guanina.

NUCLEÓTIDOS DE PIRIMIDINA En la síntesis de los nucleótidos de pirimidina el anillo de pirimidina se ensambla primero y luego se liga a la ribosa fosfato. Los átomos de carbono y nitrógeno del anillo de pirimidina proceden del bicarbonato, el aspartato y la glutamina. La síntesis comienza con la formación de carbamoil fosfato en una reacción que requiere ATP catalizada por la enzima citoplásmica carbamoil fosfato sintetasa II (Fig. 14-27). (La carbamoil fosfato sintetasa I es una enzima mitocondrial que participa en el ciclo de la urea, que se describe en el Capítulo 15). Una molécula de ATP proporciona un grupo fosfato, mientras que la hidrólisis de otro ATP impulsa la reacción. El carbamoil fosfato reacciona a continuación con el aspartato para formar carbamoil aspartato. El cierre del anillo de pirimidina lo cataliza luego la dihidroorotasa. El producto, el dihidroorotato, se oxida posteriormente para formar orotato. La dihidroorotato deshidrogenasa, la enzima que cataliza esta reacción, es una flavoproteína asociada con la membrana mitocondrial interna. (El NADH que se produce en esta reacción cede sus electrones al complejo de transporte electrónico.) Una vez sintetizado en la cara citoplásmica de la membrana mitocondrial interna, el orotato se convierte por la orotato pirofosforri-

2 ATP + HCO_3^- + Glutamina + H_2O
Carbamoil fosfato sintetasa II
Glutamato
2 ADP + P_i
Carbamoil fosfato
Aspartato transcarbamoilasa
Aspartato
P_i
Carbamoil aspartato
Dihidroorotasa
H_2O
Dihidroorotato
Dihidroorotato deshidrogenasa
NAD^+
NADH + H^+
Orotato
Orotato fosforribosil transferasa
PRPP
PP_i
Orotidina-5′-fosfato (OMP)
OMP descarboxilasa
CO_2
UMP

FIGURA 14-27
Síntesis de nucleótidos de pirimidina.
La ruta metabólica en la que se sintetiza el UMP está formada por seis reacciones enzimáticas.



bosil transferasa en orotidina-5′-fosfato (OMP), el primer nucleótido de la ruta, por reacción con el PRPP. El uridina-5′-fosfato (UMP) se produce cuando el OMP se descarboxila en una reacción que cataliza la OMP descarboxilasa. Ambas actividades orotato pirofosforribosil transferasa y OMP descarboxilasa se encuentran en una proteína que se denomina UMP sintasa. (En una enfermedad genética poco habitual que se denomina *aciduria orótica*, existe una eliminación urinaria excesiva de ácido orótico debido a que la UMP sintasa es defectuosa. Los síntomas son retraso del crecimiento y anemia. El tratamiento con una combinación de nucleótidos de pirimidina, que inhibe la producción de orotato y proporciona los bloques de construcción de la síntesis de ácidos nucleicos, invierte el proceso morboso.) El UMP es un pre-

cursor de los otros nucleótidos de pirimidina. Dos reacciones secuenciales de fosforilación forman UTP, el cual acepta un nitrógeno amida de la glutamina para formar CTP.

DESOXIRRIBONUCLEÓTIDOS Todos los nucleótidos que se han presentado hasta ahora son ribonucleótidos, moléculas que se utilizan principalmente como bloques de construcción del RNA, como derivados de nucleótidos de moléculas como los azúcares, o como fuentes de energía. Los nucleótidos que se requieren para la síntesis de DNA, los 3′-desoxirribonucleótidos, se producen por la reducción de los ribonucleósidos difosfato (Fig. 14-28). Los electrones que se utilizan en la síntesis de los 2′-desoxirribonucleótidos los dona, en última instancia, el NADPH. La *tiorredoxina*, una proteína de bajo peso molecular (13 kD) con dos grupos sulfhidrilo, participa en la transferencia de los átomos de hidrógeno desde el NADPH a la ribonucleótido reductasa, la enzima que cataliza la reducción de los ribonucleótidos para formar desoxirribonucleótidos. La regeneración de la tiorredoxina reducida está catalizada por la tiorredoxina reductasa.



La regulación de la ribonucleótido reductasa es compleja. La unión del dATP (desoxiadenosina trifosfato) a un lugar regulador en la enzima disminuye la actividad catalítica. La unión de los desoxirribonucleósidos trifosfato a otros lugares enzimáticos altera la especificidad del sustrato, de forma que hay aumentos diferenciales de la concentración de cada uno de los desoxirribonucleótidos. Este último proceso equilibra la producción de los 2′-desoxirribonucleótidos que se requieren para los procesos celulares, especialmente los de la síntesis del DNA.

El desoxiuridilato (dUMP) que produce la desfosforilación del dUDP, producto de la ribonucleótido reductasa, no es un componente del DNA, pero sí lo es su derivado metilado desoxitimidilato (dTMP). La metilación del dUMP está catalizada por la timidilato sintasa, que utiliza el N^5,N^{10}-metileno THF. Al transferirse el grupo metileno, se reduce a grupo metilo, mientras que la coenzima de folato se oxida para formar dihidrofolato. El THF se regenera del dihidrofolato por la dihidrofolato reductasa y el NADPH. (Esta reacción es el lugar de acción de algunos fármacos antineoplásicos, como el metotrexato.) El desoxiuridilato también puede sintetizarse a partir de dCMP por la desoxicitidilato desaminasa.

La ruta de salvamento de pirimidinas, que utiliza bases pirimidínicas preformadas a partir de fuentes alimentarias o del recambio de los nucleótidos, es de menor

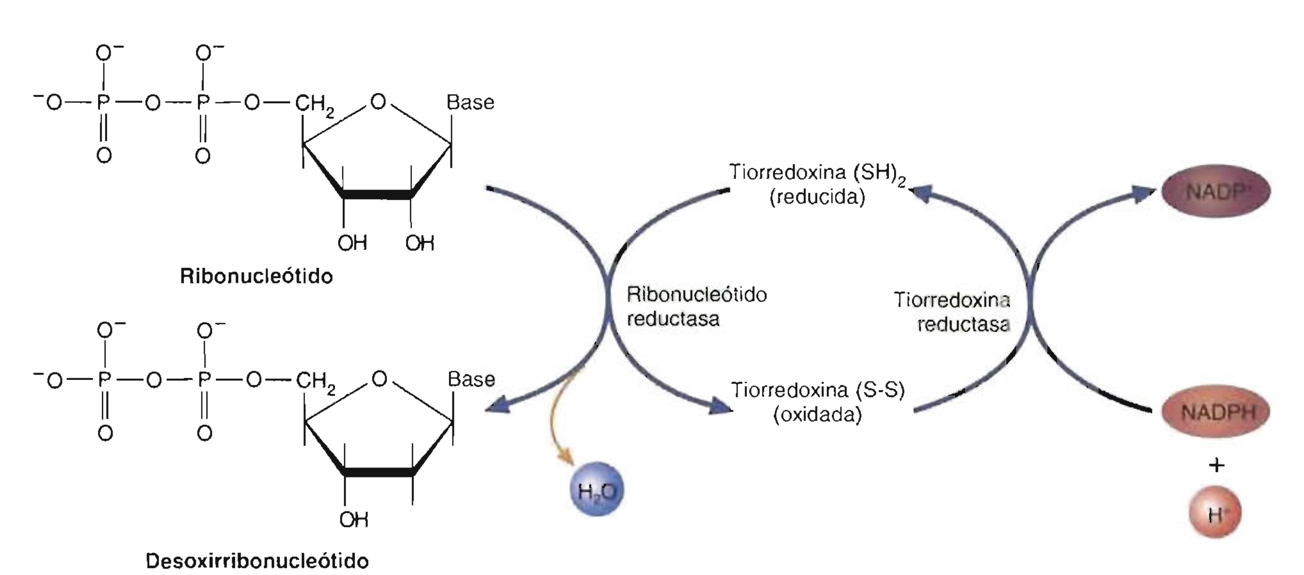


FIGURA 14-28

Biosíntesis de los desoxirribonucleótidos.

Los electrones para la reducción de los ribonucleótidos proceden en última instancia del NADPH. La tiorredoxina, una pequeña proteína con dos grupos tiol, intermedia en la transferencia de los electrones desde el NADPH a la ribonucleótido reductasa.

CONCEPTOS CLAVE 14.5

Los nucleótidos son los bloques de construcción de los ácidos nucleicos. También regulan el metabolismo y la transferencia de energía. Los nucleótidos de purina y pirimidina se sintetizan mediante rutas *de novo* y de salvación.



importancia en los mamíferos. En las bacterias, la fosforribosil transferasa cataliza la síntesis de nucleótidos a partir de PRPP y bien uracilo o bien timina. En otra ruta que se encuentra tanto en las bacterias como en algunos animales superiores, la uridina fosforilasa cataliza la síntesis de uridina a partir de uracilo y ribosa-1-fosfato. El UMP se produce en una reacción posterior entre la uridina y el ATP, que cataliza la uridina quinasa. Se han identificado también enzimas semejantes que catalizan reacciones de salvamento para otros nucleótidos de pirimidina.

En los mamíferos, la carbamoil fosfato sintetasa II es una enzima reguladora clave de la biosíntesis de los nucleótidos de pirimidina. La enzima se inhibe por el UTP, el producto de la ruta, y se estimula por los nucleótidos de purina. En muchas bacterias, la aspartato carbamoil transferasa es la enzima reguladora clave. Se inhibe por el CTP y se estimula por el ATP.

PREGUNTA 14.10

¿Cuál es la fuente del grupo fosforribosilo de los nucleótidos? ¿Qué ruta es la fuente última de la ribosa en esta molécula?

Hemo

El hemo, una de las moléculas más complejas que sintetizan las células de los mamíferos, posee un anillo de porfirina que contiene hierro. Como se ha descrito previamente, el hemo es un componente estructural esencial de la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos. Casi todas las células aerobias sintetizan hemo debido a que se requiere para los citocromos de la CTE mitocondrial. La ruta de biosíntesis del hemo es especialmente destacada en las células del hígado, la médula ósea y el intestino, y en los reticulocitos (las células nucleadas precursoras de los eritrocitos). El hemo se sintetiza a partir de los componentes relativamente sencillos glicina y succinil-CoA.

En el primer paso de la síntesis de hemo, la glicina y la succinil-CoA se condensan para formar δ-aminolevulinato (ALA) (Fig. 14-29). Esta reacción, que requiere piridoxal fosfato, es el paso que controla la velocidad de la síntesis de porfirinas. La ALA sintasa, una enzima mitocondrial, se inhibe de forma alostérica por la *hemina*, un derivado del hemo que contiene Fe^{3+}. (Cuando la concentración de porfirina eritrocitaria es superior a la de globina, el hemo se acumula y posteriormente se oxida a hemina.) La producción de hemina disminuye también la síntesis de ALA sintasa. En el paso siguiente de la síntesis de porfirinas, se condensan dos moléculas de ALA para formar porfobilinógeno. La porfobilinógeno sintasa, que cataliza esta reacción, es una enzima que contiene cinc y que es muy sensible al envenenamiento por metales pesados (Recuadro de Interés Especial 14.4). La uroporfirinógeno I sintasa cataliza la condensación simétrica de cuatro moléculas de porfobilinógeno. Esta reacción también requiere otra proteína. La uroporfirinógeno III cosintasa altera la especificidad de la uroporfirinógeno sintasa, de forma que se produce la molécula asimétrica uroporfirinógeno III. Cuando se eliminan cuatro moléculas de CO_2, catalizado por la uroporfirinógeno descarboxilasa, se sintetiza el coproporfirinógeno. Esta reacción va seguida por la eliminación de otras dos moléculas de CO_2, formando así protoporfirinógeno IX. La oxidación de los grupos metileno del anillo de porfirina forma protoporfirina IX, el precursor directo del hemo. El paso final de la síntesis del hemo (que también se denomina *protohemo IX*) es la inserción de Fe^{2+}, una reacción que tiene lugar espontáneamente, aunque la ferroquelatasa la acelera.

CONCEPTOS CLAVE 14.6

El hemo es un sistema de anillo porfirínico nitrogenado que contiene hierro, y que se sintetiza a partir de glicina y succinil-CoA. La protoporfirina IX, la precursora del hemo, es también precursora de las clorofilas.



La protoporfirina IX también es precursora de las clorofilas. Tras incorporarse el magnesio (Mg^{2+}), la enzima Mg-protoporfirina metilesterasa cataliza la adición de un grupo metilo para formar Mg-protoporfirina IX monometiléster. Esta molécula se convierte posteriormente en clorofila mediante varias reacciones inducidas por la luz.

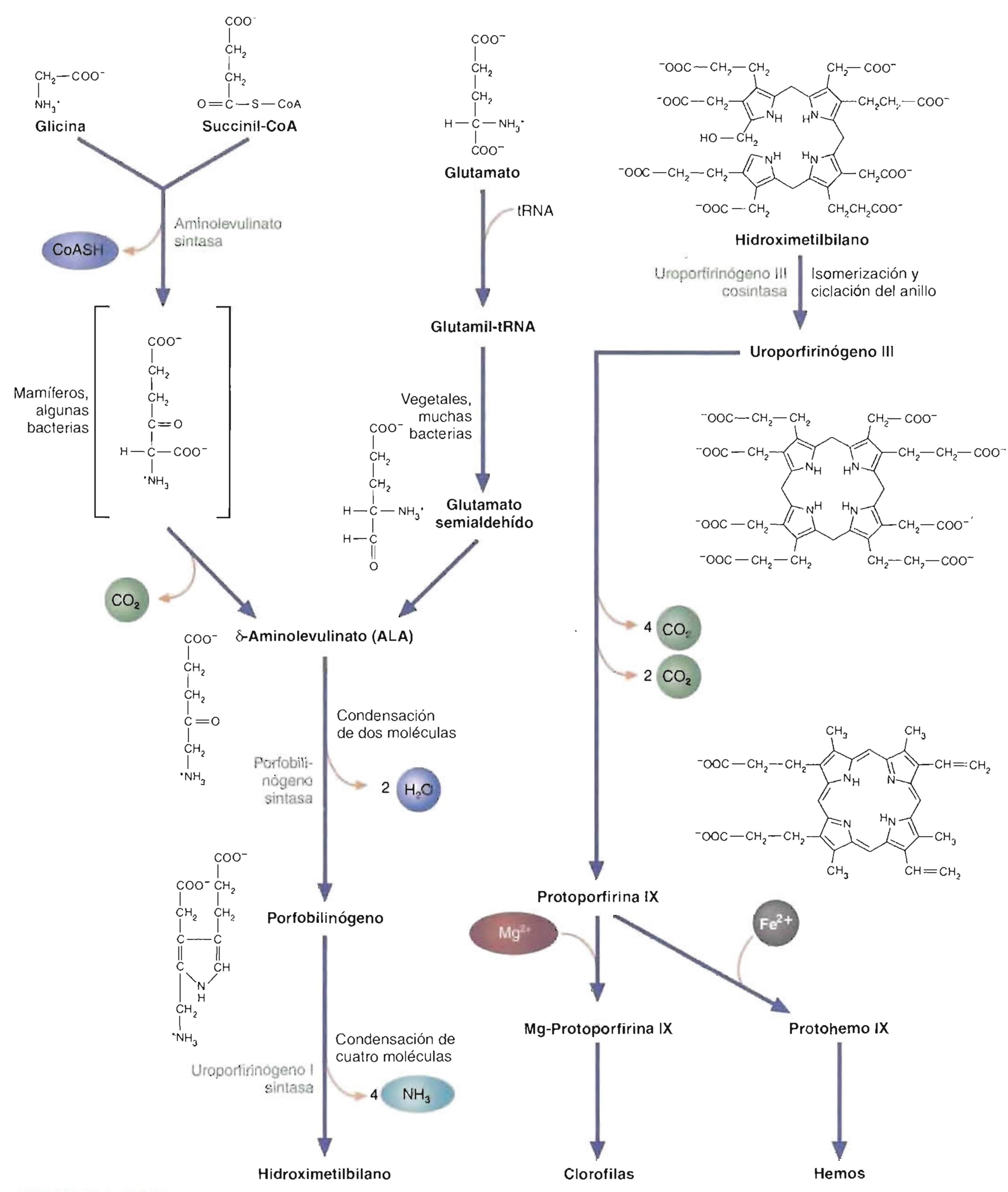


FIGURA 14-29

Biosíntesis del hemo y de la clorofila.

En los vegetales y algunas especies bacterianas, el ALA se sintetiza a partir de glutamato en un proceso con participación del glutamil tRNA. En el Capítulo 17 se presenta el tRNA (RNA de transferencia).

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 14.4. Envenenamiento por plomo

El metal pesado plomo se absorbe principalmente en los sistemas gastrointestinal y respiratorio, y se deposita en los tejidos blandos (p. ej., riñón, hígado y sistema nervioso central) y en el hueso. (En las personas afectadas, aproximadamente el 95% del plomo se secuestra en el hueso.) Los síntomas de la intoxicación por plomo, que varían de acuerdo con el grado de exposición, son anorexia, dolor y debilidad muscular, dolor abdominal, infertilidad, mortinatalidad y encefalopatía). (La *encefalopatía por plomo* es un trastorno de la corteza cerebral del encéfalo. Se caracteriza por torpeza, cefalea, irritabilidad, insomnio, retraso mental y, en casos extremos, alucinaciones y parálisis.) Los posibles efectos renales de la exposición al plomo son nefritis crónica (un trastorno inflamatorio) y trastornos de la capacidad renal para reabsorber los nutrientes, como los aminoácidos, la glucosa y el fosfato. A pesar de los esfuerzos investigadores, las regulaciones federales y el aumento del conocimiento público, la intoxicación por plomo (que también se denomina *plumbismo*) sigue siendo un serio problema de salud pública. Por ejemplo, los niños de los barrios pobres de las grandes ciudades se encuentran aún con riesgo de tener concentraciones elevadas de plomo en la sangre. Las pinturas cuya base es el plomo son consumidas por los niños debido a su sabor dulce. Además, el suelo de estas áreas con frecuencia tiene concentraciones de plomo por encima de los valores aceptables. (Estas concentraciones elevadas sin duda se deben a compuestos de plomo que se utilizaban anteriormente en la gasolina.)

Plomo y síntesis del hemo

El plomo es tóxico, en gran parte debido a que forma enlaces con los grupos sulfhidrilo de las proteínas. Cualquier proteína con grupos sulfhidrilo libres es, por lo tanto, vulnerable. Entre los ejemplos mejor conocidos de las biomoléculas sensibles al plomo se encuentran varias enzimas que catalizan reacciones de la biosíntesis del hemo. La inhibición de la porfobilinógeno sintasa por el plomo se produce con concentraciones de plomo relativamente bajas. Por lo tanto, la detección de su sustrato (ALA) en la orina se utiliza como una señal precoz de intoxicación por plomo. La inhibición de la ferroquelatasa es un indicador más fiable de una grave exposición al plomo. En la intoxicación aguda por plomo (producida por la ingestión accidental de cantidades relativamente grandes de compuestos con plomo), su sustrato (protoporfirina IX) se acumula en los tejidos. En la intoxicación crónica por plomo (un proceso lento y progresivo), aparece en sangre protoporfirina IX formando complejo con el cinc. (Debido a su elevada afinidad por el cinc, la protoporfirina IX forma complejos con este metal cuando está inhibida la ferroquelatasa.) Debido a que la protoporfirina con cinc en sangre puede medirse con facilidad, su detección es una herramienta diagnóstica valiosa.

Intoxicación por plomo: una herencia antigua

Desde los tiempos antiguos, el metal blando azul grisáceo denominado plomo ha sido extremadamente útil. Debido a que resiste a la corrosión y puede dársele forma fácilmente, el plomo tiene muchas aplicaciones comerciales e industriales. Por ejemplo, se han utilizado desde hace tiempo las aleaciones de plomo en fontanería y en la construcción de barcos. Además, varios compuestos de plomo tienen colores brillantes y han sido componentes valiosos en pinturas y cosméticos. Sin embargo, el plomo es muy tóxico. Comenzó a utilizarse hace al menos 8000 años (probablemente en áreas cercanas al mar Egeo) y pronto fue una fuente de poder económico en el mundo antiguo. Por esta razón, el envenenamiento por plomo ha sido una de las primeras enfermedades ocupacionales. Sin embargo, el plumbismo no estaba limitado a artesanos y trabajadores del metal. Debido a que los contenedores de plomo almacenaban y conservaban vino y alimentos, y las conducciones transportaban agua, la salud presentaba un riesgo elevado. La caída del Imperio Romano se ha señalado que se debió en parte a los efectos del vino y los alimentos contaminados con plomo (p. ej., insalubridad e infertilidad) sobre la aristocracia romana.

Aunque varios médicos antiguos conocían que el plomo era dañino, hasta la Revolución Industrial en Europa y América no se prestó atención a la intoxicación por plomo. Las numerosas observaciones de esterilidad, abortos, mortinatalidad y partos prematuros en mujeres que trabajaban con plomo y en las esposas de los hombres que trabajaban el plomo, llevaron al final del siglo XIX a la separación de las mujeres trabajadoras de la industria. En el siglo XIX, las mejoras de las técnicas de análisis y un despertar de la conciencia social redujeron significativamente la exposición al plomo. En la actualidad raramente se observan los efectos más graves (y evidentes) de la toxicidad por plomo. Sin embargo, se cree que el plomo es el responsable de lesiones más sutiles. Por ejemplo, en una hipótesis discutida, algunos casos de enfermedad renal e hipertensión están ligados a una leve exposición al plomo. Además, varios investigadores han asociado la torpeza intelectual y los bajos índices de inteligencia con exposiciones a concentraciones relativamente bajas de plomo.

PREGUNTA 14.11

Identifique cada una de las biomoléculas siguientes. Explique la función de cada una en los procesos bioquímicos.

(a) $^{-}O-C(=O)-CH_2-CH_2-C(=O)-S-CoA$

(b) $^{-}O-C(=O)-CH_2-CH_2-C(=O)-CH_2-NH_3^{+}$

(c) NH_2—C(=O)—O—PO_3^{2-}

(d) ^{-}O—P(=O)(O^-)—O—CH_2 … OH OH … O—P(=O)(O^-)—O—P(=O)(O^-)—O^-

RESUMEN

1. El nitrógeno es un elemento esencial de los seres vivos, debido a que se encuentra en las proteínas, los ácidos nucleicos y miríadas de otras biomoléculas. El nitrógeno de utilidad biológica, un recurso escaso, se produce en un proceso que se denomina fijación del nitrógeno. Sólo unos pocos organismos son capaces de fijar el nitrógeno para formar amoníaco y nitrato, el producto de la oxidación del amoníaco.
2. Los organismos varían mucho en su capacidad para sintetizar aminoácidos. Algunos organismos (p. ej., vegetales y algunos microorganismos) pueden producir todas las moléculas de aminoácidos que se requieren a partir del nitrógeno fijado. Los animales sólo pueden producir algunos aminoácidos. Los aminoácidos no esenciales se producen a partir de moléculas precursoras de fácil disposición, mientras que los aminoácidos esenciales deben adquirirse de los alimentos.
3. Dos tipos de reacciones desempeñan papeles destacados en el metabolismo de los aminoácidos. En las reacciones de transaminación, se producen aminoácidos nuevos cuando se transfieren grupos α-amino desde α-aminoácidos donadores a α-cetoácidos aceptores. Debido a que las reacciones de transaminación son reversibles, desempeñan un papel importante tanto en la síntesis como en la degradación de los aminoácidos. Los iones amonio o el nitrógeno amida de la glutamina pueden también incorporarse directamente en los aminoácidos y, finalmente, en otros metabolitos.
4. Los aminoácidos pueden dividirse en seis familias de acuerdo con las rutas bioquímicas en las que se sintetizan: glutamato, aspartato, piruvato, aromáticos e histidina.
5. Los aminoácidos son precursores de muchas biomoléculas de importancia fisiológica. Muchos de los procesos que sintetizan estas moléculas implican la transferencia de grupos carbono. Debido a que muchas de estas transferencias implican grupos de un carbono (p. ej., metilo, metileno, metenilo y formilo), el proceso global se denomina metabolismo de un carbono. La S-adenosilmetionina (SAM) y el tetrahidrofolato (THF) son los transportadores más importantes de grupos de un carbono.
6. Entre las moléculas que se forman a partir de los aminoácidos se encuentran varios neurotransmisores (p. ej., GABA, catecolaminas, serotonina, histamina y óxido nítrico) y hormonas (p. ej., ácido indol acético). El glutatión es un ejemplo de un derivado de aminoácido que desempeña una función esencial en las células. Los alcaloides son un grupo variado de moléculas nitrogenadas básicas. No se entiende bien la función de los alcaloides en los vegetales que los producen. Varias moléculas de alcaloide poseen efectos fisiológicos importantes en los animales. Los nucleótidos, moléculas que se utilizan como bloques de construcción de los ácidos nucleicos (así como fuentes de energía y reguladores metabólicos), poseen bases nitrogenadas heterocíclicas como parte de sus estructuras. Estas bases, que se denominan purinas y pirimidinas, se forman a partir de varias moléculas de aminoácidos. El hemo es un ejemplo de un sistema de anillo heterocíclico complejo que se forma a partir de glicina y succinil-CoA. La ruta de biosíntesis que produce el hemo es semejante a la que produce clorofila en los vegetales.

LECTURAS RECOMENDADAS

Coyle, J. T., and Puttfarcken, P., Oxidative Stress, Glutamate and Neurodegenerative Disorders, *Science*, 262:689-695, 1993.

Lancaster, J. R., Nitric Oxide in Cells, *Amer. Sci.* 80(3):248-259, 1992.

Leigh, J. A., Nitrogen Fixation in Methanogens: The Archaeal Perspective, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2(4):125-131, 2000.

Meister, A., and Anderson, M. E., Glutathione, *Ann. Rev. Biochem.*, 52:711-760, 1983.

Orme-Johnson, W.H., Molecular Basis of Biological Nitrogen Fixation, *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, 14:419-459, 1985.

Reichard, P., and Ehrenberg, A., Ribonucleotide Reductase-A Radical Enzyme, *Science*, 221:514-519, 1983.

Wedein, R. P., *Poison in the Pot:The Legacy of Lead*, Southern Illinois University Press, Carbondale and Edwardville, 1984.

Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F., and Durner, J., Nitric Oxide: Comparative Synthesis and Signaling in Animal and Plant Cells, *Trends Plant Sci.*, 6:177-183, 2001.

PALABRAS CLAVE

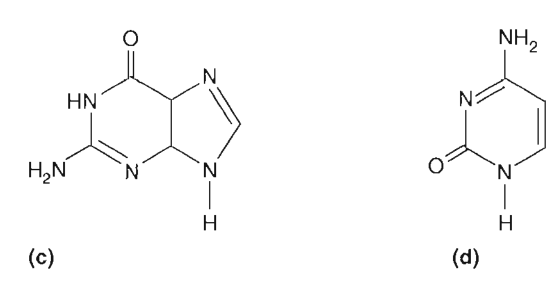
alcaloides, *483*
ametopterina, *477*
amina biógena, *480*
aminoácido de cadena ramificada, *450*
aminoácido esencial, *450*
aminoácido no esencial, *450*
análogo, *477*
anemia perniciosa, *473*
catecolamina, *467*
fijación del nitrógeno, *451*
metotrexato, *477*
neurotransmisor, *480*
nucleósido, *485*
pirimidina, *484*
purina, *484*
racemización, *455*
reserva de aminoácidos, *453*
transaminación, *451*
vitamina B_{12}, *473*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina los términos siguientes:
   a. aminoácido esencial
   b. equilibrio nitrogenado
   c. ruta *de novo*
   d. amina biógena
   e. excitotoxina
   f. neurotransmisor retrógrado
   g. análogo
   h. auxina
   i. anemia perniciosa
2. ¿Por qué las reacciones de transaminación son importantes tanto en la síntesis como en la degradación de los aminoácidos?
3. Dé dos razones por las cuales los compuestos nitrogenados están limitados en la naturaleza.
4. Los complejos nitrogenasa se inactivan irreversiblemente por el oxígeno. Explique como resuelven este problema las bacterias fijadoras de nitrógeno.
5. Utilizando ecuaciones de reacción, exponga cómo se convierte el α-cetoglutarato en glutamato. Nombre las enzimas y cofactores que se requieren.
6. En las reacciones catalizadas en que interviene el PLP, el anillo de piridina actúa como sumidero de electrones. Describa este proceso.
7. ¿De cuál de los aminoácidos siguientes no se afecta la concentración en sangre por su paso a través del hígado?
   a. alanina
   b. isoleucina
   c. fenilalanina
   d. valina
   e. glicina
   f. prolina
8. ¿Cuáles son las dos principales clases de neurotransmisores? ¿En qué se diferencian sus formas de acción? Dé un ejemplo de cada tipo de neurotransmisor.
9. Describa las rutas para sintetizar cada uno de los siguientes aminoácidos:
   a. glutamina
   b. metionina
   c. treonina
   d. glicina
   e. cisteína
10. Determine la familia de síntesis a la que pertenece cada uno de los siguientes aminoácidos:
    a. alanina
    b. fenilalanina
    c. metionina
    d. triptófano
    e. histidina
    f. serina
11. ¿Cuáles son los dos transportadores más importantes del metabolismo de un carbono? Dé ejemplos de sus funciones en el metabolismo.
12. El glutatión es un tiol intracelular importante. Relacione cinco funciones del glutatión en el cuerpo.
13. Dé una relación de diez aminoácidos esenciales en el ser humano. ¿Por qué son esenciales?
14. A continuación se presentan seis compuestos. Indique cuáles son nucleósidos, nucleótidos o bases púricas o pirimidínicas.

(a)

(b)



(c)

(d)

(e)

15. En los nucleósidos de pirimidina predomina la conformación *anti* debido a las interacciones estéricas con la pentosa. ¿Tienen los nucleósidos de purina interacciones semejantes?
16. Describa las interacciones estéricas que determinan las conformaciones que asumen los nucleósidos de pirimidina.
17. Bosqueje las reacciones que tienen lugar en el ensamblaje del anillo de purina. Incluya en su respuesta las estructuras.
18. Con referencia a la Pregunta 17, calcule el número de moléculas de ATP que se requieren para sintetizar una purina. Con relación a la ruta de salvamento de purinas, calcule el número de moléculas de ATP que se requieren para preparar la misma molécula. ¿Cuántas moléculas de ATP se ahorran en la ruta de salvamento de purinas?
19. Explique por qué el ciclo del γ-glutamilo transporta los aminoácidos a través de la membrana. ¿Cómo ayuda la localización de la γ-glutamil transpeptidasa a impulsar este proceso?
20. Los aminoácidos glutamina y glutamato ocupan una posición central en el metabolismo de los aminoácidos. Explíquelo.

21. Una bacteria mutante es incapaz de sintetizar glicina. ¿Qué intermediario de la biosíntesis de purinas se acumulará?
22. Se ha descrito que las reacciones de transaminación tienen un mecanismo ping-pong. Utilizando la reacción de la alanina con el α-cetoglutarato, indique cómo se produce esta reacción ping-pong.
23. El piridoxal fosfato actúa como un transportador intermediario de grupos amino durante las reacciones de transaminación. Escriba un conjunto de reacciones para mostrar el papel del piridoxal fosfato en la reacción de la alanina y el α-cetoglutarato.
24. ¿Cuál es la forma biológicamente activa del ácido fólico? ¿Cómo se forma?
25. Identifique las biomoléculas siguientes. Describa el papel metabólico de cada una de ellas.

(a) (b) (c)

(d) (e)

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Siga a la molécula siguiente marcada radiactivamente a través de la ruta de biosíntesis del AMP.

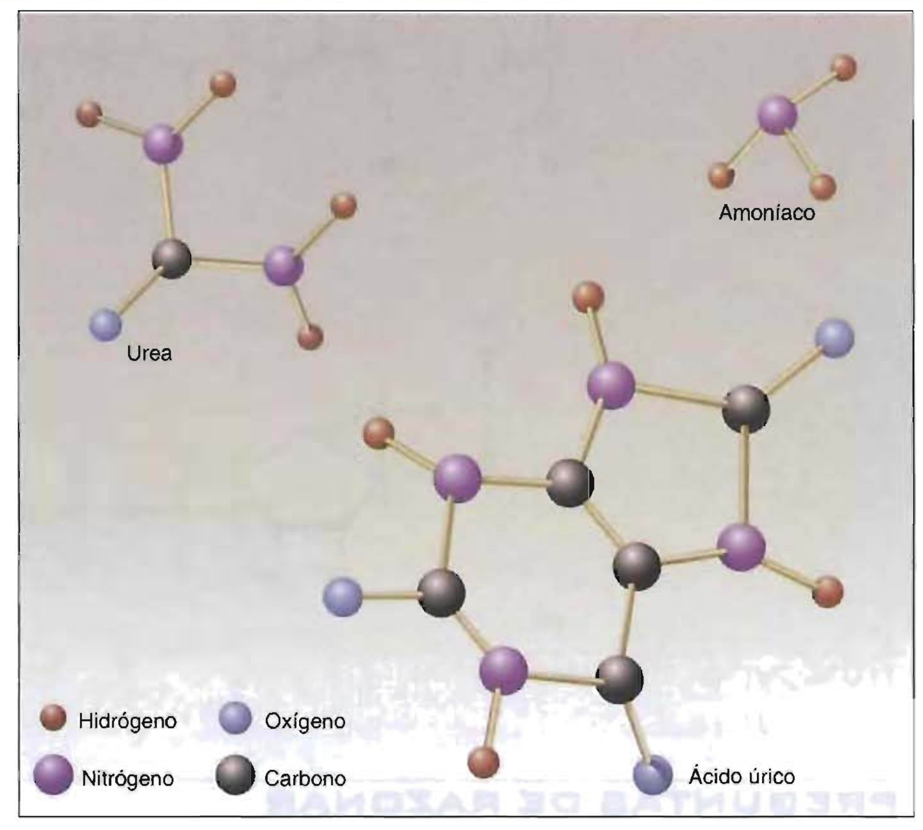
$$H_3N^+{-}^{14}CH_2{-}COO^-$$

2. Aunque las consumen los animales en su alimento, las bases púricas y pirimidínicas (a diferencia de los ácidos grasos y los azúcares) no se utilizan para generar energía. Explíquelo.
3. ¿Por qué los corredores de maratón prefieren las bebidas con azúcar en lugar de aminoácidos durante una carrera larga?
4. Cuando las personas susceptibles consumen glutamato monosódico sufren diversos síntomas extremadamente desagradables, como un aumento de la tensión sanguínea y de la temperatura corporal. Utilizando sus conocimientos sobre la actividad del glutamato, explique estos síntomas.
5. La radiación ejerce parte de sus efectos lesivos por la formación de radicales hidroxilo. Escriba una reacción para explicar cómo protege el glutatión contra esta forma de daño de la radiación.
6. En la síntesis de los nucleótidos de pirimidina, los átomos de carbono y nitrógeno proceden del bicarbonato, el aspartato y la glutamina. Diseñe un experimento sencillo para demostrar la fuente de los átomos de nitrógeno. No olvide tener en cuenta el intercambio de nitrógeno en los aminoácidos.
7. La mayoría de los aminoácidos puede interconvertirse con facilidad con el α-cetoácido correspondiente. Esto no es cierto para la lisina. En el proceso de varios pasos para formar el α-cetoácido correspondiente de la lisina, un paso inicial conduce a la formación de una base de Schiff. Explique cómo puede formarse este producto.
8. Por definición, los aminoácidos esenciales no se sintetizan por un organismo. La arginina se clasifica como aminoácido esencial en los niños aunque sea parte del ciclo de la urea. Explíquelo.
9. Si un organismo se incuba con $^{14}CH_2(OH)CH(NH_2)COOH$, ¿qué posiciones del anillo de purina se marcarán?
10. Indique la fuente de cada carbono y nitrógeno del anillo de pirimidina.
11. En las reacciones catalizadas con PLP, el enlace que se rompe en la molécula de sustrato debe ser perpendicular al plano del anillo de piridina. Considerando los enlaces presentes en el anillo, describa por qué esta disposición estabiliza el carbanión.

CAPÍTULO QUINCE

Metabolismo del nitrógeno II: Degradación

SUMARIO



El ácido úrico, la urea y el amoniaco se encuentran entre las moléculas de desecho nitrogenadas más comunes.

El metabolismo de las moléculas nitrogenadas, como las proteínas y los ácidos nucleicos, se diferencia de forma significativa del de los hidratos de carbono y los lípidos. Mientras que estas últimas moléculas pueden almacenarse y movilizarse cuando se requieran para reacciones de biosíntesis o para generar energía, no existe una molécula de almacenamiento de nitrógeno. (Una excepción a esta regla es el almacenamiento de proteínas en las semillas.) Los organismos deben reponer constantemente sus suministros de nitrógeno utilizable para sustituir al nitrógeno que se pierde en el catabolismo. Por ejemplo, los animales deben tener un suministro continuo de nitrógeno en su alimentación para sustituir al nitrógeno que se elimina como urea, ácido úrico y otros productos de desecho nitrogenadas.

A pesar de su estabilidad aparente, la mayoría de las células se están renovando constantemente. Para mantenerse, repararse y/o reproducirse, las células deben adquirir nutrientes de su entorno. Como se ha descrito, los nutrientes se utilizan como bloques de construcción y como fuentes de energía necesarios para impulsar los procesos celulares. Uno de los aspectos más evidentes de la renovación celular es el recambio de las proteínas y de los ácidos nucleicos, las principales macromoléculas responsables de la complejidad de los modernos procesos vivos. Además, la capacidad para sintetizar y degradar estas moléculas en su momento permite a los organismos responder a los desafíos fisiológicos y ambientales.

Los átomos de nitrógeno fluyen por los seres vivos, debido a la síntesis y degradación continua de las proteínas y los ácidos nucleicos, así como de otras moléculas nitrogenadas. Debido a la dificultad y costo que implica la fijación del nitrógeno (y su consiguiente escasez), no es sorprendente que los seres vivos reciclen el nitrógeno orgánico en diversos metabolitos antes de que finalmente se convierta en su forma inorgánica. En algunos organismos (p. ej., vegetales y microorganismos), este proceso no comienza hasta que mueren. Luego los *descomponedores*, microorganismos que habitan en el suelo y el agua, convierten el nitrógeno orgánico de todos los organismos muertos en amoníaco. El amoníaco, o sus productos oxidados nitrato y nitrito, pueden absorberse posteriormente y utilizarse por los organismos cercanos. Alternativamente, el nitrato puede convertirse en nitrógeno atmosférico, un proceso que se denomina *desnitrificación*.

Los animales, que tienen un estilo de vida más energético y agresivo, parecen derrochar el nitrógeno orgánico. Para mantener la flexibilidad metabólica, los animales han tenido que formar mecanismos para eliminar las moléculas nitrogenadas excedentes y tóxicas (es decir, los aminoácidos y los nucleótidos) que no se requieren de forma inmediata en los procesos celulares. Estas moléculas se convierten en desechos nitrogenados. Aunque se han observado muchas variaciones entre las especies, pueden realizarse las generalizaciones siguientes. El nitrógeno de los aminoácidos se elimina por reacciones de desaminación y se convierte en amoníaco. La naturaleza tóxica de esta molécula requiere que deba destoxificarse y/o eliminarse tan rápidamente como se genera. Debido a su solubilidad, muchos animales acuáticos pueden eliminar el propio amoníaco, que se disuelve en el agua de los alrededores y se diluye rápidamente. (Estos organismos se denominan *amonotélicos*.) Los animales terrestres, que deben conservar el agua corporal, convierten el amoníaco en moléculas que pueden eliminarse sin una gran pérdida de agua. Por ejemplo, los mamíferos convierten el amoníaco en urea. (Los organismos que producen urea se denominan *ureotélicos*.) Otros animales, como los pájaros, determinados reptiles y los insectos, que tienen problemas de conservación del agua aún más rigurosos, se denominan *uricotélicos*, debido a que convierten el amoníaco en ácido úrico. En muchos animales (p. ej., el ser humano y las aves), el ácido úrico es también el producto de desecho nitrogenado del catabolismo de los nucleótidos de purina.

Debido a que las rutas catabólicas nitrogenadas son semejantes en muchos organismos y la mayoría de los esfuerzos investigadores del catabolismo del nitrógeno se han concentrado en los mamíferos, las rutas de los mamíferos son el centro de este capítulo. El Capítulo 15 comienza con una consideración de las rutas que degradan los aminoácidos para formar amoníaco y los esqueletos carbonados que se utilizan en los procesos anabólicos y catabólicos. Sigue a continuación una consideración de la síntesis de urea. El Capítulo 15 finaliza con la descripción de la degradación de diversos neurotransmisores aminados, los nucleótidos y la porfirina hemo.

15.1. CATABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS

A pesar de la complejidad de las rutas degradativas de los aminoácidos, pueden realizarse las siguientes afirmaciones generales. El catabolismo de los aminoácidos normalmente comienza con la eliminación del grupo amino. Los grupos amino pueden

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 15.1. Recambio proteico

La concentración celular de cada clase de proteína es consecuencia del equilibrio entre su síntesis y su degradación. Aunque parece derrochador, la degradación y resíntesis continua de las proteínas, un proceso que recibe el nombre de **recambio proteico**, tiene varios fines. El primero de todos es la flexibilidad metabólica, que se consigue mediante cambios relativamente rápidos de la concentración de enzimas reguladoras clave, hormonas peptídicas y moléculas receptoras. El recambio proteico protege también a las células de la acumulación de proteínas anómalas. Finalmente, numerosos procesos fisiológicos dependen tanto de las reacciones de degradación oportunas como de las de síntesis. Entre los ejemplos destacados se encuentran el control del ciclo celular eucariota y la presentación antigénica. La progresión de las células eucariotas a través de las fases del ciclo celular (Sección 18.1) está regulada por la síntesis y degradación oportunas de una clase de proteínas que se denominan *ciclinas*. En la *presentación antigénica* determinadas células del sistema inmunitario (p. ej., macrófagos) capturan sustancias anormales o ajenas. La mayoría de las moléculas que pueden desencadenar una respuesta inmunitaria, que se denominan *antígenos*, son polipéptidos o proteínas. El antígeno degradado parcialmente se transfiere a la membrana plasmática del macrófago donde se utiliza para activar determinados linfocitos T (células T) mediante interacciones célula-célula. Las células T son los reguladores principales de la respuesta inmunitaria corporal.

Las proteínas se diferencian de forma significativa en sus velocidades de recambio, que se miden en forma de semividas. (Una *semivida* es el tiempo que se requiere para que se degrade el 50% de una cantidad específica de una proteína.) Las proteínas que desempeñan funciones estructurales suelen tener semividas más largas. Por ejemplo, algunas proteínas del tejido conjuntivo (p. ej., los colágenos) suelen tener semividas que se miden en años. Por el contrario, las semividas de las enzimas reguladoras suelen medirse en minutos. En el Cuadro 15-1 se dan varios ejemplos seleccionados.

A pesar de una considerable investigación, aún no están claros los mecanismos del recambio proteico. Sin embargo, ya se conocen varios aspectos de este proceso. Las proteínas se degradan mediante enzimas proteolíticas que se encuentran por toda la célula. Entre ellas, las calpaínas activadas por Ca^{2+} y las catepsinas lisosómicas. Además, la ubiquinación se cree que tiene una función fundamental en el recambio proteico. En la **ubiquinación**, que se ilustra en la Figura 15A, varias moléculas de una proteína eucariota pequeña de 76 residuos que se denomina **ubiquitina** se unen covalentemente a algunas proteínas destinadas a la degradación. Una vez que la proteína está ubiquinada, se degrada por un complejo proteolítico con varias subunidades que se denomina **proteosoma**. Debido a que las moléculas de ubiquitina no se degradan en este proceso, quedan a disposición de nuevos procesos de degradación proteica.

La ubiquitina, que se encuentra en varios compartimientos celulares (p. ej., citoplasma y núcleo), pertenece a una clase de proteínas que se denominan *proteínas de agresión*. Éstas, que también se llaman **proteínas de choque térmico** (hsp), se denominan de esta manera debido a que su síntesis se acelera (y en algunos casos se inicia) cuando las células son agredidas. (El nombre de *proteína de choque térmico* es engañoso, debido a que su síntesis induce diversas condiciones agresoras, además de una temperatura elevada.) Otras proteínas de agresión actúan como **chaperonas moleculares**, es decir, promueven el plegado proteico (pág. 692). Las proteínas de choque térmico y las chaperonas moleculares desempeñan también funciones significativas en el transporte proteico y las interacciones moleculares.

No se entienden bien los mecanismos que dirigen a las proteínas a la destrucción por ubiquinación o por otros procesos degradativos. Sin embargo, las características siguientes parecen marcarlas para la destrucción:

CUADRO 15-1
Semividas de proteínas humanas

Proteína	Valor aproximado de la semivida (h)
Orinitina descarboxilasa	0.5
Tirosina aminotransferasa	2
Triptófano oxigenasa	2
PEP carboxiquinasa	5
Arginasa	96
Aldolasa	118
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	130
Citocromo c	150
Hemoglobina	2880

luego eliminarse en la síntesis de la urea. Los esqueletos carbonados que se producen a partir de los aminoácidos se degradan posteriormente para formar siete productos metabólicos: acetil-CoA, aetoacetil-CoA, piruvato, α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxalacetato. Dependiendo de los requerimientos del animal, estas moléculas se utilizan para sintetizar ácidos grasos o glucosa o para generar energía. Los aminoácidos que se degradan para formar acetil-CoA o acetoacetil-CA se denominan **cetogénicos**, debido a que pueden convertirse en ácidos grasos o cuerpos cetónicos. Los esqueletos carbonados de los aminoácidos **glucogénicos**, que se degradan a piruvato o a un intermediario del ciclo del ácido cítrico, pueden utilizarse a continuación en la gluconeogénesis. Tras considerar las rutas de desaminación y la síntesis de urea, se describen las rutas que degradan los esqueletos carbonados.

1. **Residuos N-terminales.** El residuo N-terminal de una proteína es parcialmente responsable de su susceptibilidad a la degradación. Por ejemplo, las proteínas con residuos N-terminales de metionina o alanina tienen semividas sustancialmente más largas que las que tienen leucina o lisina.
2. **Motivos peptídicos.** Las proteínas con determinadas secuencias homólogas se degradan rápidamente. Por ejemplo, las proteínas que tienen secuencias extendidas con prolina, glutamato, serina y treonina tienen semividas de menos de 2 horas. (Las secuencias PEST que reciben este nombre por las abreviaturas de una letra de estos aminoácidos. Véase el Cuadro 5-1.) La *caja de destrucción de ciclina* es un conjunto de secuencias homólogas de las ciclinas de nueve residuos cerca del N-terminal que asegura la rápida ubiquinación.
3. **Residuos oxidados.** Los residuos de aminoácidos oxidados (es decir, los residuos que están alterados por oxidasas o por ataque de ROS) promueven la degradación proteica.

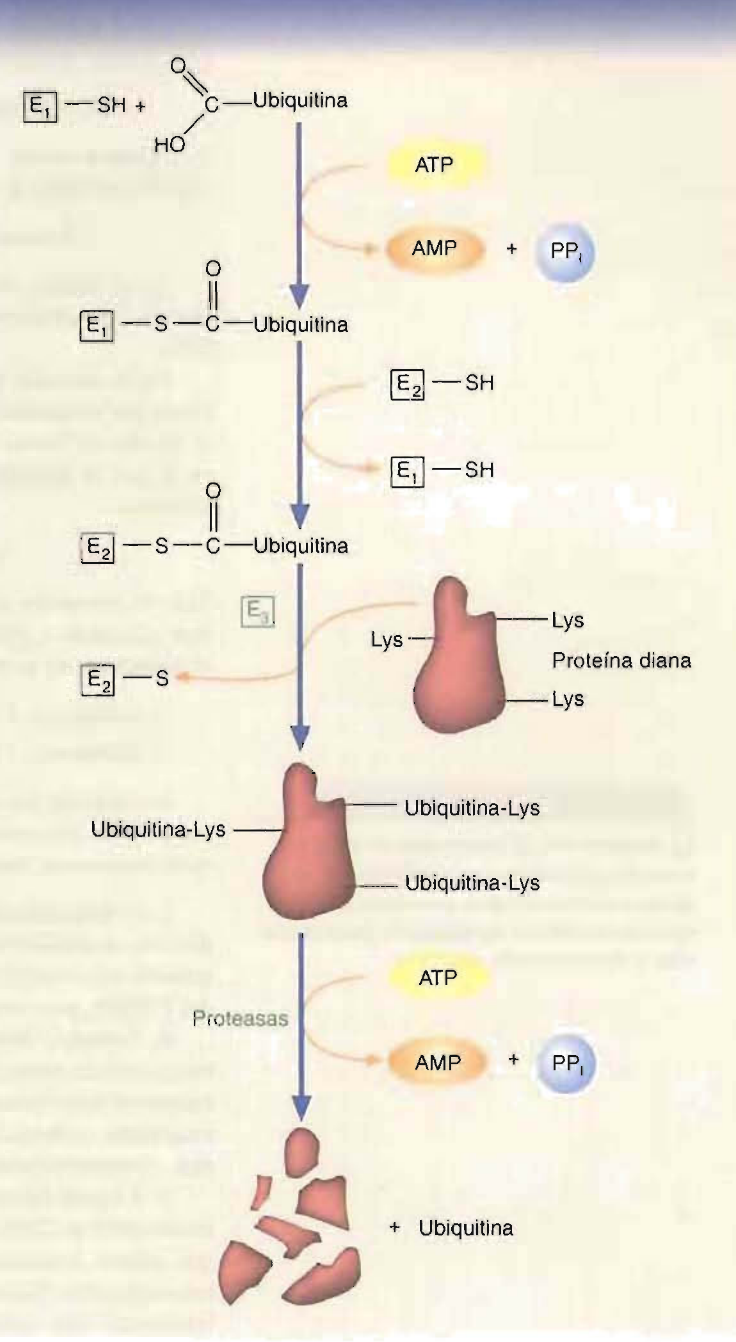


FIGURA 15A Ubiquinación de las proteínas

Tres enzimas participan en la preparación de la ubiquitina para su actuación en la degradación proteica. En el primer paso, una enzima activadora E_1 forma un éster tiólico con la ubiquitina. (La reacción la impulsa la hidrólisis del ATP a AMP.) Luego se transfiere la ubiquitina desde E_1 a E_2. La ubiquitina puede transferirse desde E_2 (enzima conjugadora de ubiquitina) directamente a una proteína diana. Con frecuencia E_2 es el sustrato de una proteína direccionadora de la ubiquitina denominada E_3, que identifica proteínas específicas que van a degradarse. En este último proceso se transfiere la ubiquitina desde E_2 a E_3 y luego a la proteína diana. La ubiquitina está unida a las proteínas diana por un enlace covalente entre la glicina C-terminal de la ubiquitina y el grupo ε-amino de la cadena lateral de los residuos de lisina de la proteína señalada. La mayoría de las células poseen una única clase de E_1 y numerosas familias de E_2 y E_3.

Desaminación

La eliminación del grupo α-amino de los aminoácidos incluye dos tipos de reacciones químicas: transaminación y desaminación oxidativa. Ya se han descrito ambas reacciones (Sección 14.2). (Recuerde que las reacciones de transaminación ocupan posiciones importantes en la síntesis de los aminoácidos no esenciales.) Debido a que estas reacciones son reversibles, los grupos amino se desvían fácilmente de los aminoácidos abundantes y se utilizan para sintetizar los que son escasos. Los grupos amino quedan disponibles para la síntesis de urea cuando los aminoácidos se encuentran en exceso. La urea se sintetiza en cantidades especialmente elevadas cuando la alimentación tiene abundantes proteínas o cuando hay una degradación masiva de proteínas, por ejemplo, durante la inanición.

En el músculo, los grupos amino que sobran se transfieren al α-cetoglutarato para formar glutamato:

$$\alpha\text{-Cetoglutarato} + \text{L-Aminoácido} \rightleftharpoons \text{L-Glutamato} + \alpha\text{-Cetoácido}$$

Los grupos amino de las moléculas de glutamato se transportan en la sangre al hígado mediante el ciclo de la alanina (Fig. 8-9).

$$\text{Piruvato} + \text{L-Glutamato} \rightleftharpoons \text{L-Alanina} + \alpha\text{-Cetoglutarato}$$

En el hígado, el glutamato se forma al invertirse la reacción catalizada por la alanina transaminasa. La desaminación oxidativa del glutamato da α-cetoglutarato y NH_4^+.

En la mayoría de los tejidos extrahepáticos, el grupo amino del glutamato se libera por desaminación oxidativa en forma de NH_4^+. El amoníaco se transporta hasta el hígado en forma de grupo amida de la glutamina. La reacción que requiere ATP en la que el glutamato se convierte en glutamina está catalizada por la glutamina sintetasa:

$$\text{L-Glutamato} + NH_4^+ + \text{ATP} \longrightarrow \text{L-Glutamina}$$

Tras su transporte al hígado, la glutamina se hidroliza por la glutaminasa para formar glutamato y NH_4^+. Se genera otro NH_4^+ al convertir la glutamato deshidrogenasa el glutamato en α-cetoglutarato:

$$\text{L-Glutamina} + H_2O \longrightarrow \text{L-Glutamato} + NH_4^+$$
$$\text{L-Glutamato} + H_2O + NAD^+ \longrightarrow \alpha\text{-Cetoglutarato} + NADH + H^+ + NH_4^+$$

CONCEPTOS CLAVE 15.1

La degradación de la mayoría de los aminoácidos comienza con la eliminación del grupo α-amino. En ésta participan dos tipos de reacciones bioquímicas: transaminación y desaminación oxidativa.

La mayoría del amoníaco que se genera en la degradación de los aminoácidos lo produce la desaminación oxidativa del glutamato. Se produce más amoníaco en otras reacciones catalizadas por las siguientes enzimas:

1. **L-Aminoácido oxidasas.** Se generan pequeñas cantidades de amoníaco por diversas L-aminoácido oxidasas que se encuentran en el hígado y el riñón, que requieren una coenzima mononucleótido de flavina (FMN). Ésta se regenera a partir del $FMNH_2$ por una reacción con el O_2 para formar H_2O_2.
2. **Serina y treonina deshidrasas.** La serina y la treonina no son sustratos de reacciones de transaminación. Sus grupos amino se eliminan por las enzimas hepáticas serina deshidratasa y treonina deshidratasa, que requieren piridoxal fosfato. Los esqueletos carbonados producto de estas reacciones son el piruvato y el α-cetobutirato, respectivamente.
3. **Ureasa bacteriana.** Una fuente importante del amoníaco del hígado (aproximadamente el 25%) se produce por la acción de determinadas bacterias del intestino que poseen la enzima ureasa. La urea presente en la sangre que circula a través del tubo digestivo inferior difunde a través de las membranas celulares dentro de la luz intestinal. Una vez hidrolizada la urea por la ureasa bacteriana para formar amoníaco, esta última sustancia difunde de vuelta a la sangre, que la transporta al hígado.

Síntesis de urea

En los organismos ureotélicos, el ciclo de la urea elimina aproximadamente el 95% del nitrógeno sobrante. Como se muestra en la Figura 15-1, la urea se forma a partir de amoníaco, CO_2 y aspartato en una ruta cíclica que se denomina **ciclo de la urea**. Debido a que el ciclo de la urea lo descubrieron Hans Krebs y Kurt Henseleit, a menudo se denomina también **ciclo de la urea de Krebs** o *ciclo de Krebs-Henseleit*.

La síntesis de urea, que tiene lugar en los hepatocitos, comienza con la formación de carbamoil fosfato en la matriz mitocondrial. Los sustratos de esta reacción que cataliza la carbamoil fosfato sintetasa I, son NH_4^+ y HCO_3^-. (La fuente de nitrógeno de la carbamoil fosfato sintetasa II, la enzima que participa en la síntesis de pirimidinas, es la glutamina.)

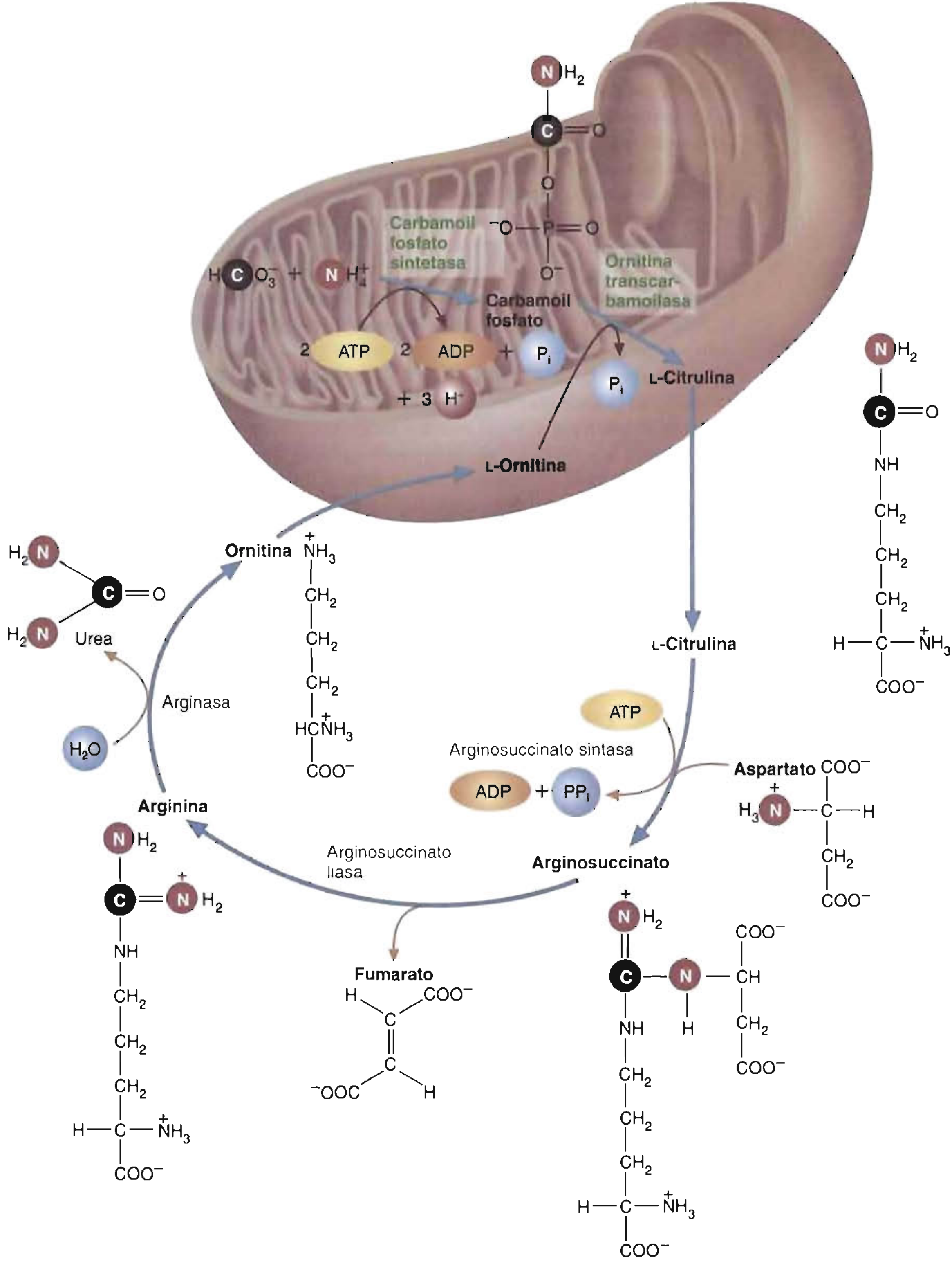


FIGURA 15-1

Ciclo de la urea.

El ciclo de la urea convierte el NH_4^+ en urea, una molécula menos tóxica. Se muestran en color las fuentes de los átomos de la urea. La citrulina se transporta a través de la membrana interna por un transportador de aminoácidos neutros. La ornitina se transporta mediante intercambio con H^+ o citrulina. El fumarato se transporta de vuelta a la matriz mitocondrial (para su reconversión en malato) mediante transportadores para el α-cetoglutarato o los ácidos tricarboxílicos.

Como en la síntesis de carbamoil fosfato se requieren dos moléculas de ATP, esta reacción es esencialmente irreversible. (Una se utiliza para activar el HCO_3^- y la segunda molécula se utiliza para fosforilar el carbamato.) El carbamoil fosfato reacciona a continuación con la orinitina para formar citrulina. Esta reacción, que cataliza la ornitina transcarbamoilasa, se lleva hasta completarse debido a que se libera fosfato del carbamoil fosfato. (Recuerde del Cuadro 4-2 que el carbamoil fosfato tiene un potencial de transferencia de grupo fosfato elevado.) Una vez formada, la citrulina se transporta al citoplasma, donde reacciona con el aspartato para formar arginosuccinato. (El grupo α-amino del aspartato, que se forma a partir del oxalacetato mediante reacciones de transaminación en el hígado, proporciona el segundo nitrógeno que se incorpora en última instancia en la urea.) Esta reacción, que está catalizada por la arginosuccinato sintasa, es reversible. Se impulsa hacia delante por la rotura del pirofosfato por la pirofosfatasa. A continuación, la arginosuccinato liasa rompe el arginosuccinato para formar arginina (el precursor inmediato de la urea) y fumarato. En la reacción final del ciclo de la urea, la arginasa cataliza la hidrólisis de la arginina para formar ornitina y urea. Una vez formada, la urea difunde fuera de los hepatocitos al torrente sanguíneo. Finalmente se elimina en la orina por el riñón. La ornitina (un aminoácido básico) vuelve a las mitocondrias para condensarse con el carbamoil fosfato e iniciar de nuevo el ciclo. Debido a que la arginasa sólo se encuentra en cantidades significativas en el hígado de los animales ureotélicos, la urea sólo se produce en este órgano.

Tras su transporte de vuelva a la matriz mitocondrial, el fumarato se hidrata para formar malato, un componente del ciclo del ácido cítrico. El producto oxalacetato del ciclo del ácido cítrico puede utilizarse para generar energía o puede convertirse en glucosa o aspartato. En la Figura 15-2 se esquematiza la relación entre el ciclo de la urea y el ciclo del ácido cítrico, que suele denominarse **biciclo de Krebs**:

$$CO_2 + NH_4^+ + \text{aspartato} + 3\ ATP + 2\ H_2O \longrightarrow$$
$$\text{urea} + \text{fumarato} + 2\ ADP + 2\ P_i + AMP + PP_i + 5\ H^+$$

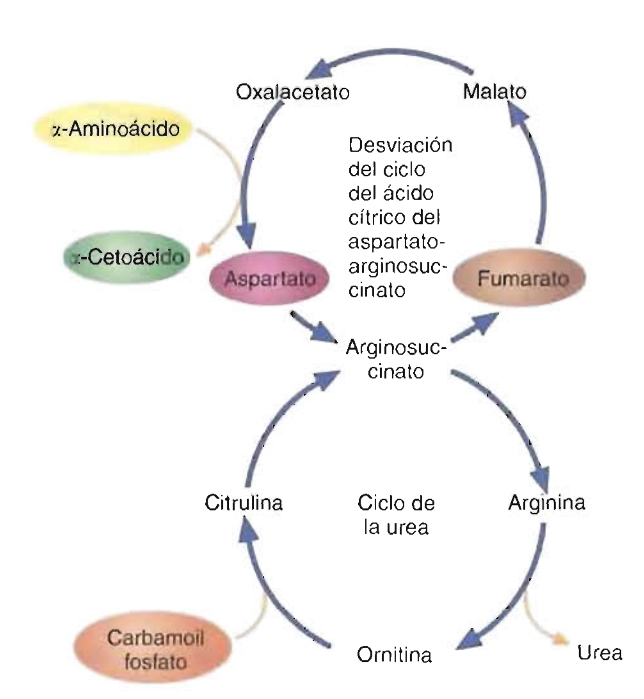


FIGURA 15-2

Biciclo de Krebs.

El aspartato que se utiliza en la síntesis de urea se genera a partir de oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 15.2. Hiperamonemia

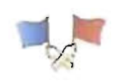
La **hiperamonemia** es un trastorno en el que la concentración de NH_4^+ en sangre es muy elevada (es decir, mayor de 60 μM). Las concentraciones elevadas de amoníaco son graves; las consecuencias de la **intoxicación por amoníaco** son letargo, temblores, habla balbuciente, visión borrosa, vómitos inducidos por las proteínas (vómitos que produce el consumo de proteínas en el alimento), coma y la muerte.

La hiperamonemia puede deberse a defectos genéticos o a cirrosis hepática. En la hiperamonemia congénita (hereditaria), un trastorno relativamente poco frecuente, una o varias enzimas del ciclo de la urea falta o es defectuosa. La ausencia completa de una enzima del ciclo de la urea es mortal pronto tras el nacimiento. El daño cerebral puede minimizarse en los niños que tienen deficiencias parciales en la síntesis de urea si se inicia un tratamiento agresivo inmediatamente después del nacimiento. (El tratamiento consiste en dietas con restricciones severas de la ingestión de proteínas.) En la cirrosis, la pérdida de función hepática es devastadora debido a la extensa inflamación y necrosis (muerte celular). Se produce con mayor frecuencia por un consumo prolongado excesivo de etanol. Causas menos comunes de cirrosis son una exposición prolongada a sustancias químicas tóxicas como el tetracloruro de carbono, la hepatitis (inflamación del hígado que suele producirse por infecciones víricas) y la amebiasis (una infección con amebas parásitas).

Debido a que la mayoría de los síntomas de la intoxicación por amoníaco se manifiestan en el tejido cerebral, el amoníaco se considera un agente neurotóxico. Aunque se han dedicado esfuerzos investigadores significativos para elucidar los efectos del amoníaco sobre las células cerebrales, no está claro aún el mecanismo del daño. Se ha observado que las concentraciones de iones amonio tan bajas como 1-2 μM interrumpen la transmisión nerviosa excitadora e inhibidora. Los neurotransmisores inhibidores, como la glicina, se vuelven ineficaces debido a que el NH_4^+ inactiva los canales del Cl^-. El NH_4^+ impide la unión del glutamato, un neurotransmisor excitador, a sus receptores postsinápticos. El metabolismo del glutamato puede también quedar comprometido por su reacción con el NH_4^+, que cataliza la glutamina sintasa (véase la pág. 459), y que puede hacer que el tejido nervioso quede sin glutamato. También se ha implicado al agotamiento de α-cetoglutarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico. Otros efectos tóxicos del amoníaco sobre el cerebro pueden ser la inhibición del transporte de los aminoácidos y de la Na^+-K^+-ATPasa.

En la síntesis de una molécula de urea se consumen cuatro fosfatos de energía elevada. Se requieren dos moléculas de ATP para regenerar el ADP a partir del AMP, y dos moléculas de ATP a partir de dos moléculas de ADP.

Control del ciclo de la urea



Como el amoníaco es tan tóxico (Recuadro de Interés Especial 15.2), no es sorprendente que el ciclo de la urea esté regulado de una forma muy estricta. Existen mecanismos reguladores a largo y a corto plazo. Las concentraciones de las cinco enzimas del ciclo de la urea se alteran por variaciones del consumo de proteínas en el alimento. Varios días después de un cambio alimentario, hay variaciones de las concentraciones enzimáticas de dos o tres veces. Se cree que varias hormonas (p. ej., el glucagón y los glucocorticoides) participan en las modificaciones de las velocidades de síntesis de las enzimas.

Las enzimas del ciclo de la urea están controladas a corto plazo por las concentraciones de sus sustratos. La carbamoil fosfato sintetasa I también está activada de forma alostérica por el *N-acetilglutamato*. Esta última molécula es un indicador sensible de las concentraciones celulares de glutamato. (Recuerde que una cantidad significativa de NH_4^+ procede del glutamato.) El N-acetilglutamato se produce a partir de glutamato y acetil-CoA en una reacción catalizada por la N-acetilglutamato sintasa.

CONCEPTOS CLAVE 15.2

La urea se sintetiza a partir de amoníaco, CO_2 y aspartato. El ciclo de la urea está cuidadosamente regulado para evitar la hiperamonemia.

PREGUNTA 15.1

Aunque la arginina es un intermediario del ciclo de la urea, es un aminoácido esencial en los animales jóvenes. Sugiera una razón para este fenómeno.

PREGUNTA 15.2

En algunas circunstancias clínicas, los pacientes con hiperamonemia se tratan con antibióticos. Sugiera una base racional para este tratamiento.

Catabolismo de los esqueletos carbonados de los aminoácidos

Los α-aminoácidos pueden agruparse en clases, de acuerdo con sus productos finales. Como se ha mencionado previamente, éstos son acetil-CoA, acetoacetil-CoA, piruvato, y varios intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Cada grupo se considera

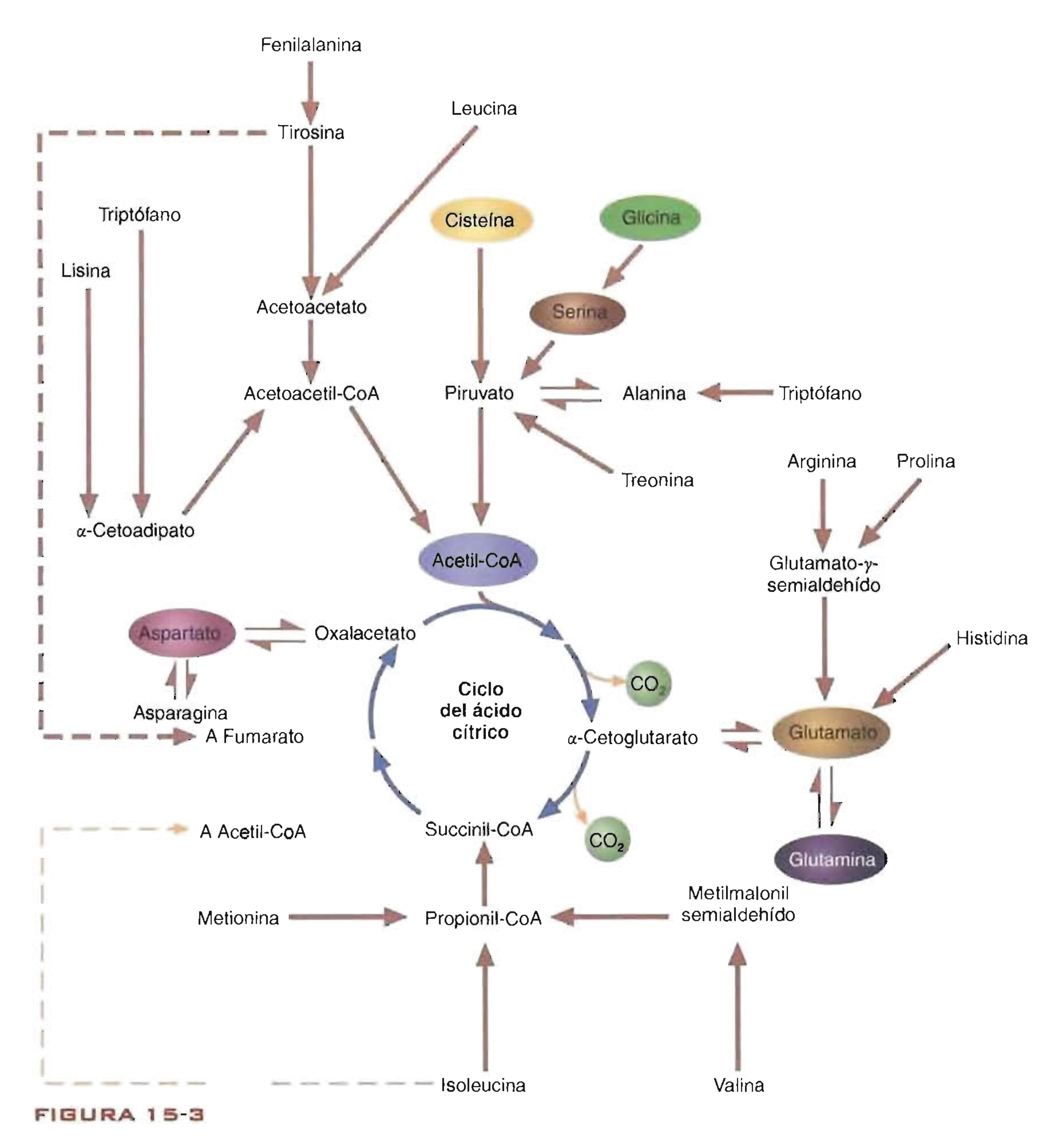


FIGURA 15-3

Degradación de los 20 α-aminoácidos que se encuentran en las proteínas.

Los grupos α-amino se eliminan al inicio de las rutas catabólicas. Los esqueletos carbonados se convierten en intermediarios metabólicos comunes.

brevemente. En la Figura 15-3 se esquematizan las rutas de degradación de los 20 α-aminoácidos de las proteínas.

AMINOÁCIDOS QUE FORMAN ACETIL-CoA Del total, 10 α-aminoácidos dan acetil-CoA. Este grupo puede dividirse de acuerdo a si el piruvato es un intermediario en la formación de acetil-CoA. (Recuerde que el piruvato se convierte en acetil-CoA por el complejo piruvato deshidrogenasa.) Los aminoácidos cuya degradación implica al piruvato son alanina, serina, glicina, cisteína y treonina. Los otros cinco aminoácidos que se convierten en acetil-CoA mediante rutas que no implican al piruvato son lisina, triptófano, tirosina, fenilalanina y leucina. En las Figuras 15-4 y 15-5 se bosquejan las dos secuencias de reacción.

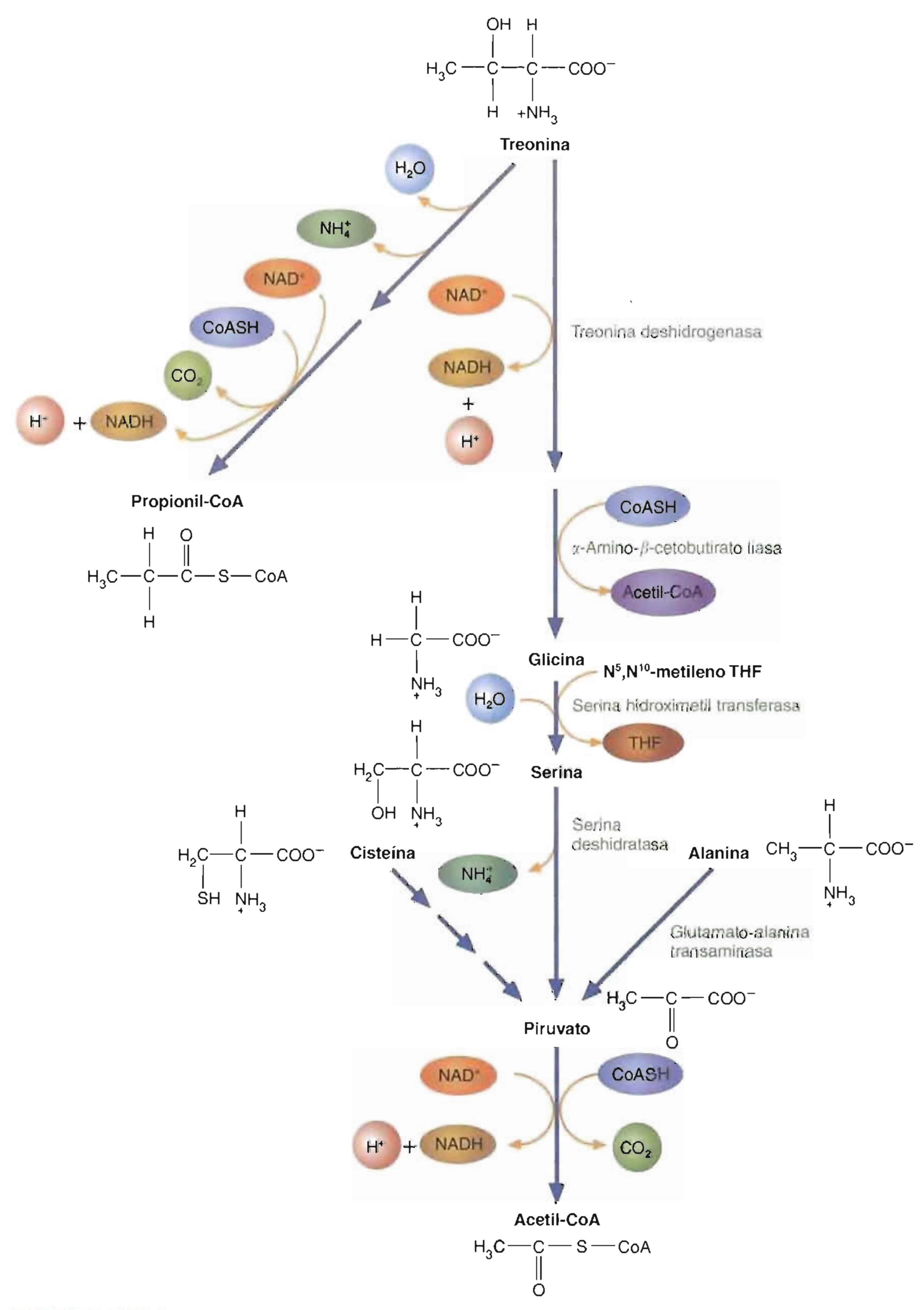


FIGURA 15-4

Rutas catabólicas de treonina, glicina, serina, cisteína y alanina.

El piruvato es un intermediario en la conversión de estos aminoácidos a acetil-CoA. Observe que la glicina se degrada también por la glicina sintasa para formar CO_2, NH_4^+ y N^5,N^{10}-metileno THF en una reacción que requiere NAD^+. En los primates la mayoría de las moléculas de treonina se degradan a propionil-CoA.

Triptófano
Fenilalanina
Tirosina
Lisina
Leucina
Fumarato
Acetil-CoA
α-Cetoadipato
Acetoacetato
Acetoacetil-CoA
Acetil-CoA

FIGURA 15-5
Rutas catabólicas de lisina, triptófano, fenilalanina, tirosina y leucina.
Estas rutas son largas y complejas. El número de reacciones en cada segmento está indicado por el número de flechas.

1. Alanina. Recuerde que la reacción de transaminación reversible en la que participan la alanina y el piruvato es un componente importante del ciclo de la alanina que se ha presentado previamente (Sección 8.2).

2. Serina. Como se ha descrito, la serina se convierte en piruvato por la serina deshidratasa.

3. Glicina. La glicina puede convertirse en serina por la serina hidroximetil transferasa. (El grupo hidroximetilo lo cede el N^5,N^{10}-metileno THF como se ha descrito en la Sección 14.3). Luego la serina se convierte en piruvato, como se ha visto anteriormente. Sin embargo, la mayor parte de las moléculas de glicina se degradan a CO_2, NH_4^+ y un grupo metileno que elimina el THF. La enzima que actúa es la glicina sintasa (que también se denomina enzima de rotura de la glicina), que requiere NAD^+.

4. Cisteína. En los animales, la cisteína se convierte en piruvato mediante varias rutas. En la ruta principal, la conversión tiene lugar en tres pasos. Inicialmente, la cisteína se oxida a cisteína sulfato. El piruvato se produce tras una transaminación y una reacción de desulfuración.

5. Treonina. En la ruta degradativa principal, la treonina se oxida por la treonina deshidrogenasa para formar α-amino-β-cetobutirato. Esta última molécula se metaboliza posteriormente para formar lactato a través de piruvato, o puede fragmentarse por la α-amino-β-cetubutirato liasa para formar acetil-CoA y glicina. Como se ha descrito anteriormente, la glicina se convierte en acetil-CoA a través del piruvato. De otra manera, la treonina puede degradarse a α-cetobutirato por la treonina deshidratasa y posteriormente a propionil-CoA, que luego se convierte en succinil-CoA (véase la pág. 385).

6. Lisina. La lisina se convierte en α-cetoadipato en un conjunto de reacciones que incluyen dos oxidaciones, la eliminación del grupo amino de la cadena lateral y una transaminación. La acetoacetil-CoA se produce en un conjunto posterior de reacciones con varias oxidaciones, una descarboxilación y una hidratación. La acetoacetil-CoA puede convertirse en acetil-CoA en una reacción que es la inversa de un paso de la formación de los cuerpos cetónicos.

7. Triptófano. El triptófano se convierte en α-cetoadipato en un conjunto largo y complejo de ocho reacciones, que también dan formato y alanina. La acetil-CoA se sintetiza a partir de α-cetoadipato como se ha descrito para la lisina. La alanina que se produce en esta ruta se convierte en acetil-CoA a través del piruvato.

8. Tirosina. El catabolismo de la tirosina comienza con una transaminación y una deshidroxilación. El homogentisato se sintetiza en la última reacción, que cataliza la parahidroxifenilpiruvato dioxigenasa que requiere ascorbato. El homogentisato se convierte en maleilacetoacetato por la homogentisato oxidasa. En reacciones de isomerización e hidratación posteriores se forman acetacetato y fumarato.

9. Fenilalanina. La fenilalanina se convierte en tirosina por la fenilalanina-4-monooxigenasa, en una reacción que se presenta en la Figura 15-6. La tirosina se degrada para formar acetoacetato y fumarato.

10. Leucina. La leucina, uno de los aminoácidos de cadena ramificada, se convierte en HMG-CoA en un conjunto de reacciones que comprenden una transaminación, dos oxidaciones, una carboxilación y una hidratación. La HMG-CoA se convierte posteriormente en acetil-CoA y acetoacetato por la HMG-CoA liasa.

AMINOÁCIDOS QUE FORMAN α-CETOGLUTARATO Cinco aminoácidos (arginina, prolina, histidina, glutamato y glutamina) se degradan a α-cetoglutarato. En la Figura 15-7 se esquematiza su catabolismo. A continuación se describe brevemente cada ruta.

FIGURA 15-6

Conversión de fenilalanina en tirosina.

La reacción que cataliza la fenilalanina-4-monooxigenasa es irreversible. Los electrones que se requieren para la hidroxilación de la fenilalanina son transportados hasta el O_2 a partir del NADPH por la tetrahidrobiopterina.

Arginina
Prolina
Glutamato-γ-semialdehído
Histidina
Glutamina
Glutamato
α-Cetoglutarato
Ciclo del ácido cítrico

FIGURA 15-7

Rutas catabólicas de arginina, prolina, histidina, glutamina y glutamato. Todos estos aminoácidos se convierten finalmente en α-cetoglutarato.

1. **Glutamato y glutamina.** La glutamina se convierte en glutamato por la glutaminasa. Como se ha descrito previamente, el glutamato se convierte en α-cetoglutarato por la glutamato deshidrogenasa o por transaminación.

2. **Arginina.** Recuerde que la arginina se fragmenta por la arginasa para formar ornitina y urea. En una reacción de transaminación posterior, la ornitina se convierte en glutamato-γ-semialdehído. Luego, se produce glutamato al hidratarse y oxidarse el glutamato-γ-semialdehído. El α-cetoglutarato se produce por una reacción de transaminación o por una desaminación oxidativa.

3. **Prolina.** El catabolismo de la prolina comienza con una reacción de oxidación que da lugar a Δ^1-pirrolina, que se convierte en glutamato-γ-semialdehído por una reacción de hidratación. Luego se forma glutamato por otra reacción de oxidación.

4. **Histidina.** La histidina se convierte en glutamato en cuatro reacciones: una desaminación no oxidativa, dos hidrataciones, y la eliminación de un grupo formamino (NH═CH—) por el THF.

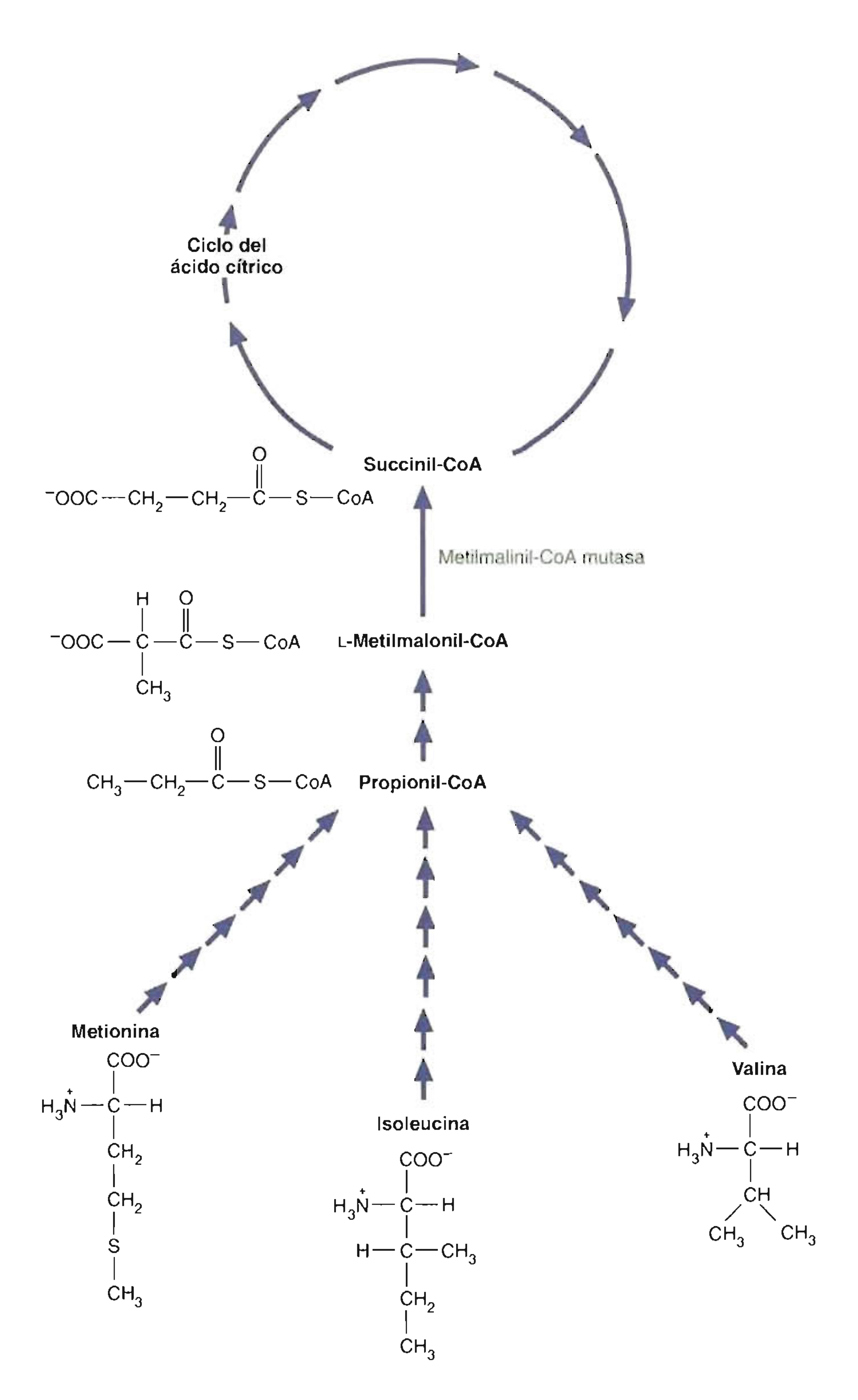


FIGURA 15-8

Rutas catabólicas de metionina, isoleucina y valina.

La propionil-CoA y la L-metilmalonil-CoA son intermediarios en la conversión de estos aminoácidos en succinil-CoA. La metilmalonil-CoA mutasa es una enzima que requiere vitamina B_{12}. Observe que la treonina se degrada también por la ruta propionil-CoA/succinil-CoA (véase la Fig. 15-4).

AMINOÁCIDOS QUE FORMAN SUCCINIL-CoA La succinil CoA se forma a partir del esqueleto carbonado de la metionina, la isoleucina, la valina y la treonina (ya comentado). En la Figura 15-8 se da un esquema de las reacciones que degradan los tres primeros aminoácidos.

1. Metionina. La degradación de la metionina comienza con la formación de S-adenosilmetionina, a la que sigue una reacción de desmetilación, como se ha descrito (Fig. 14-16). La S-adenosilhomicisteína, el producto de la última reacción, se hidroliza a adenosina y homocisteína. Luego, la homocisteína se combina con la

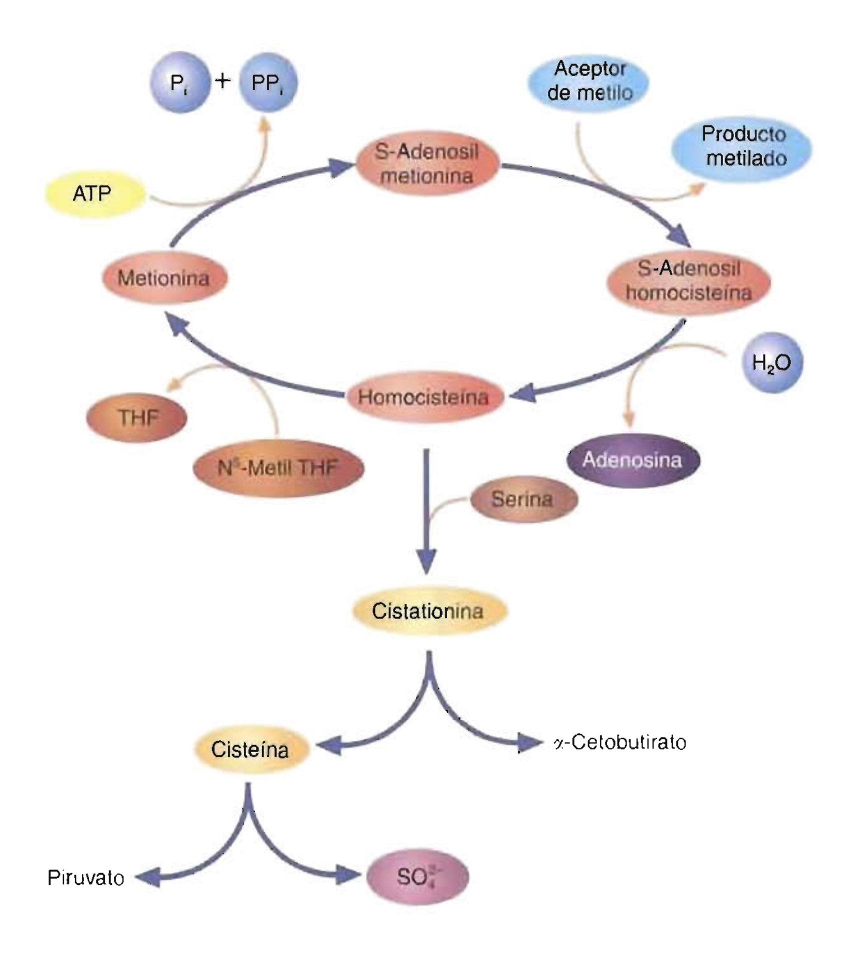


FIGURA 15-9
Ruta de transulfuración.
El átomo de azufre de la metionina se transforma en el átomo de azufre de la cisteína. El sulfato que se genera en el catabolismo de la cisteína se elimina o se utiliza en diversas rutas de biosíntesis o catabólicas. Las rutas de transulfuración y metilación están íntimamente relacionadas.

serina para dar cistationina. La rotura de la cistationina produce cisteína, α-cetobutirato y NH_4^+. El α-cetobutirato se convierte posteriormente en propionil-CoA por la α-cetoácido deshidrogenasa. La propionil-CoA se convierte en succinil-CoA en tres pasos. La enzima que cataliza el último de estos pasos, la metilmalonil-CoA mutasa, requiere metilcobalamina. La conversión de metionina en cisteína suele denominarse **ruta de transulfuración** (Fig. 15-9). Una cantidad sustancial del sulfato que se produce por la degradación de la cisteína se elimina en la orina. El sulfato también se utiliza en la síntesis de los sulfátidos y los proteoglucanos. Además, las moléculas como los esteroides y determinados fármacos se eliminan como ésteres de sulfato.

2. Isoleucina y valina. Las primeras cuatro reacciones de la degradación de isoleucina y valina son idénticas. Inicialmente, ambos aminoácidos experimentan reacciones de transaminación para formar α-ceto-β-metilvalerato y α-cetoisovalerato, respectivamente. Sigue luego la formación de derivados de CoA y reacciones de descarboxilación oxidativa, oxidación y deshidratación. El producto de la ruta de la isoleucina, posteriormente se hidrata, deshidrogena y rompe para formar acetil-CoA y propionil-CoA. En la ruta de degradación de la valina, el intermediario α-cetoácido se convierte en propionil-CoA tras hidratarse un doble enlace y eliminarse la CoA por hidrólisis. Tras la formación de un aldehído por la oxidación del grupo hidroxilo, se produce la propionil-CoA al formarse un nuevo tioéster durante una descarboxilación oxidativa.

CONCEPTOS CLAVE 15.3

Los esqueletos carbonados de los aminoácidos pueden degradarse a uno o varios metabolitos. Entre ellos acetil-CoA, acetoacetil-CoA, α-cetoglutarato, succinil-CoA y oxalacetato.

AMINOÁCIDOS QUE FORMAN OXALACETATO El aspartato y la asparagina se degradan para formar oxalacetato. El aspartato se convierte en oxalacetato con una única reacción de transaminación. La asparagina inicialmente se hidroliza para dar aspartato y NH_4^+ por la asparaginasa.

PREGUNTA 15.3

La taurina es una amina sulfurada que se sintetiza a partir de cisteína. Con la excepción de su incorporación a las sales biliares, no se conocen bien las funciones fisiológicas de la taurina. Sin embargo, varios datos sugieren que la taurina es un metabolito importante. Por ejemplo, la taurina se encuentra en grandes cantidades en el tejido encefálico. Además, se ha visto recientemente que los gatos domésticos presentan insuficiencia cardíaca congestiva cuando se alimentan con una dieta sin taurina. (Los gatos no pueden sintetizar taurina. Por esta razón, deben consumir carne en su alimentación. Los gatos que reciben alimentaciones vegetarianas pronto se hacen indiferentes y finalmente mueren de forma prematura.) En la mayoría de los animales, la taurina se sintetiza a partir del sulfinato de cisteína (el producto de oxidación de la cisteína) en dos reacciones: una descarboxilación seguida de una oxidación del grupo sulfinato ($-SO_2^-$) para formar sulfonato ($-SO_3^-$). Con esta información, determine la ruta de biosíntesis de la taurina. (*Pista*: En el Capítulo 12 en la pág. 413 se muestra la estructura de la taurina. También véase la Figura 15-9.)

PREGUNTA 15.4

Algunos aminoácidos se clasifican como cetogénicos y glucogénicos. Revise las rutas catabólicas de los aminoácidos y determine los aminoácidos que pertenecen a ambas categorías.

15.2. DEGRADACIÓN DE NEUROTRANSMISORES SELECCIONADOS

La consideración de los trastornos catabólicos de los aminoácidos indica que los procesos catabólicos son tan importantes para el funcionamiento adecuado de las células y organismos como los procesos anabólicos. Esto también es cierto para las moléculas que actúan como neurotransmisores. Para mantener la transferencia adecuada de información, los neurotransmisores se degradan rápidamente o se eliminan de la hendidura sináptica. Un ejemplo extremo de la inhibición enzimática ilustra la importancia de la degradación de los neurotransmisores. Recuerde que la acetilcolina es el neurotransmisor que inicia la contracción muscular. Muy poco tiempo después, la acción de la acetilcolina se acaba por la enzima acetilcolinesterasa. (La acetilcolina debe destruirse rápidamente de forma que el músculo pueda relajarse antes de la siguiente contracción.) La acetilcolinesterasa es una serina esterasa que hidroliza la acetilcolina a acetato y colina. Las serina esterasas tienen mecanismos catalíticos semejantes a los de las serina proteasas (Sección 6.4). Ambos tipos de enzimas se inhiben irreversiblemente por el DFP (disiopropilfluorofosfato). La exposición al DFP produce parálisis muscular debido a que la acetilcolinesterasa se inhibe irreversiblemente. Con cada impulso nervioso, entran en la hendidura sináptica neuromuscular más moléculas de acetilcolina. Las moléculas de acetilcolina que se acumulan repetidamente se unen a los receptores de acetilcolina. Las células musculares sobreestimuladas quedan pronto paralizadas (afuncionales). Las personas afectadas se asfixian debido a la paralización de los músculos respiratorios.

Las catecolaminas adrenalina, noradrenalina y dopamina se inactivan por reacciones de oxidación que cataliza la monoamino oxidasa (MAO) (Fig. 15-10). Debido a que la MAO se encuentra dentro de las terminaciones nerviosas, las catecolaminas deben transportarse fuera de la hendidura sináptica antes de su inactivación. (El proceso por el que se transportan los neurotransmisores de vuelta a las células nerviosas de forma que puedan reutilizarse o degradarse se denomina *recaptación*.) La adrenalina, que se libera como una hormona desde las glándulas suprarrenales, se transporta en la sangre y se cataboliza en los tejidos no nerviosos (quizá el riñón). Las catecolaminas se inactivan también en reacciones de metilación que cataliza la catecol-O-metiltransferasa (COMT). Estas dos enzimas (MAO y COMT) actúan juntas para dar lugar a una gran variedad de metabolitos oxidados y metilados de las catecolaminas.

Dopamina
Monoamino oxidasa
Dopamina-β-hidroxilasa
3,4-Dihidroxifenilacetaldehído
Noradrenalina
SAM
SAH
PNMT
Monoamino oxidasa
3,4-Dihidroxifenilglicolaldehído
Monoamino oxidasa
Adrenalina

FIGURA 15-10

Inactivación de las catecolaminas.

La monoamino oxidasa es una flavoproteína que cataliza la desaminación oxidativa de las aminas para formar los aldehídos correspondientes. El O_2 es el aceptor electrónico y el NH_3 y el H_2O_2 son los otros productos. (PNMT = feniletanolamina-N-metiltransferasa.)

CONCEPTOS CLAVE 15.4

La transferencia de información en los animales requiere que los neurotransmisores tras su liberación se degraden rápidamente o se eliminen de la hendidura sináptica.

Tras su recaptación en las células nerviosas, la serotonina se degrada en una ruta en dos pasos (Fig. 15-11). En la primera reacción, la serotonina se oxida por la MAO. El producto, el 5-hidroxiindol-3-acetaldehído se oxida posteriormente por la aldehído deshidrogenasa para formar 5-hidroxiindol-3-acetato.

PREGUNTA 15.5

Identifique cada uno de los neurotransmisores siguientes. Explique cómo se inactiva cada uno.

(a) (b)

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 15.3. Trastornos del catabolismo de los aminoácidos

Los defectos del catabolismo de los aminoácidos fueron de las primeras enfermedades genéticas que se conocieron e investigaron. Estos «errores innatos del metabolismo» se producen por **mutaciones** (cambios permanentes de la información genética, es decir, de la estructura del DNA). Lo más habitual en las enfermedades genéticas relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos es que el gen defectuoso codifique una enzima. El bloqueo metabólico que se produce por esta deficiencia interrumpe los procesos celulares y a nivel del organismo muy coordinados, lo que da lugar a la producción de cantidades anómalas de algunos metabolitos o a metabolitos anómalos. Debido a que estos metabolitos (o sus concentraciones elevadas) suelen ser tóxicos, se produce un daño permanente de los tejidos. A continuación se presentan algunos de los errores innatos del metabolismo de los aminoácidos que se observan con mayor frecuencia.

La *alcaptonuria*, que produce la deficiencia de homogentisato oxidasa, fue la primera enfermedad que se ligó con una herencia genética que implica a una única enzima. En 1902, Archibald Garrod propuso que una única unidad hereditaria (que posteriormente se denominó gen) era responsable de que la orina de los pacientes alcaptonúricos adquiriera un color negro. En la orina se eliminan cantidades importantes de homogentisato, el sustrato de la enzima defectuosa. El homogentisato se vuelve negro cuando se oxida al exponerse la orina al aire. Aunque la orina negra parece ser un trastorno esencialmente benigno (aunque algo desconcertante), la alcaptonuria no es inocua, ya que los pacientes alcaptonúricos sufren de artritis al final de la vida. Además, el pigmento se acumula gradualmente y finalmente oscurece la piel.

El *albinismo* es un ejemplo de defecto genético con consecuencias graves. La enzima tirosinasa es deficitaria. Como consecuencia, no se produce *melanina*, un pigmento negro que se encuentra en la piel, el pelo y los ojos. Se forma a partir de tirosina en varios tipos celulares, por ejemplo, los melanocitos de la piel. En estas células, la tirosinasa convierte la tirosina en DOPA, y la DOPA en dopaquinona. Un gran número de moléculas de este último producto, que es muy reactivo, se condensan para formar melanina. Debido a la carencia del pigmento, las personas afectadas (que se denominan albinas) son muy sensibles a la luz del sol. Además de su susceptibilidad al cáncer de piel y a las quemaduras solares, suelen tener poca vista.

La *fenilcetonuria*, que produce una deficiencia de fenilalanina hidroxilasa, es una de las enfermedades genéticas más comunes del metabolismo de los aminoácidos. Si este trastorno no se identifica y se trata inmediatamente después del nacimiento, se produce retraso mental y otras formas de lesiones cerebrales irreversibles. Estas lesiones se producen como consecuencia de la acumulación de fenilalanina. (No se conoce el mecanismo real de la lesión.) Cuando se encuentra en exceso, la fenilalanina se transamina para formar fenilpiruvato, que también se convierte en fenilactato y fenilacetato. Se eliminan en la orina grandes cantidades de estas moléculas. El fenilacetato proporciona a la orina su olor mohoso. La fenilcetonuria se trata con una dieta baja en fenilalanina.

En la *enfermedad de la orina de jarabe de arce*, que también se denomina *cetoaciduria de cadena ramificada*, se acumulan en la sangre grandes cantidades de los α-cetoácidos procedentes de la leucina, la isoleucina y la valina. Su presencia en la orina proporciona un olor característico que da el nombre a la enfermedad. Los tres α-cetoácidos se acumulan debido a una deficiencia del complejo α-cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa. (Esta actividad enzimática es responsable de la conversión de los α-cetoácidos en sus derivados acil-CoA.) Si no se trata, las personas afectadas sufren vómitos, convulsiones, daño cerebral grave y retraso mental. Suelen morir antes de 1 año de edad. Como con la fenilcetonuria, el tratamiento consiste en un control dietético rígido.

La deficiencia de metilmalonil-CoA mutasa se produce en la *acidemia metilmalónica*, un trastorno en el que se acumula en la sangre metilmalonato. Los síntomas son semejantes a los de la enfermedad de la orina de jarabe de arce. El metilmalonato puede acumularse también debido a una deficiencia de adenosilcobalamina o a la unión débil de esta coenzima por una enzima defectuosa. Algunas personas afectadas responden a las inyecciones de dosis diarias grandes de vitamina B_{12}.

PREGUNTA 15.6

Diversos trastornos médicos se tratan actualmente con medicamentos que bloquean la actividad biológica o el metabolismo de los neurotransmisores. El término *antagonistas* se emplea para describir las moléculas que bloquean las acciones biológicas de los neurotransmisores normales. Por ejemplo, determinadas moléculas de fármacos que se utilizan para el tratamiento de la hipertensión antagonizan la acción de las catecolaminas. (La unión de las catecolaminas a moléculas receptoras

específicas en el sistema cardiovascular contrae los vasos sanguíneos.) Otro ejemplo interesante son determinados medicamentos para el tratamiento de los *trastornos obsesivos compulsivos* (TOC). Los TOC son alteraciones que se caracterizan por la intrusión persistente de pensamientos no deseados y perturbadores y/o la realización compulsiva de determinados actos como lavarse las manos. Por razones desconocidas, los inhibidores de la recaptación de serotonina han sido muy eficaces para la mejora de los síntomas de los pacientes. Los inhibidores de la recaptación de los neurotransmisores tienen efectos semejantes a los **agonistas**, las sustancias que impulsan o amplifican los efectos fisiológicos de un neurotransmisor.



La miastenia grave se trata con fármacos que inhiben a la acetilcolinesterasa, la enzima que degrada la acetilcolina. La *miastenia grave* es una enfermedad autoinmunitaria en la que los autoanticuerpos se unen al receptor de acetilcolina de las membranas celulares del músculo esquelético iniciando su destrucción. Gradualmente, se va reduciendo el número de receptores funcionales de acetilcolina. Este trastorno se caracteriza por debilidad muscular y fatigabilidad. Finalmente, los pacientes presentan dificultad para hablar y tragar. Sin embargo, poco tiempo después de consumir inhibidores reversibles de la colinesterasa (p. ej., neoestigmina o fitoestigmina), los pacientes mejoran significativamente de sus síntomas. De acuerdo con su conocimiento de la acción de la acetilcolina, ¿puede sugerir cómo consiguen los fármacos anticolinesterásicos esta mejoría clínica a corto plazo? (*Pista*: Para que se contraiga una célula muscular, deben haber unido acetilcolina un número determinado de receptores de acetilcolina. En las personas normales este número de receptores es significativamente menor que el número de receptores de la membrana de la célula muscular. Tenga en cuenta también que la unión y desunión productiva de un neurotransmisor a su receptor suelen ser rápidas.)

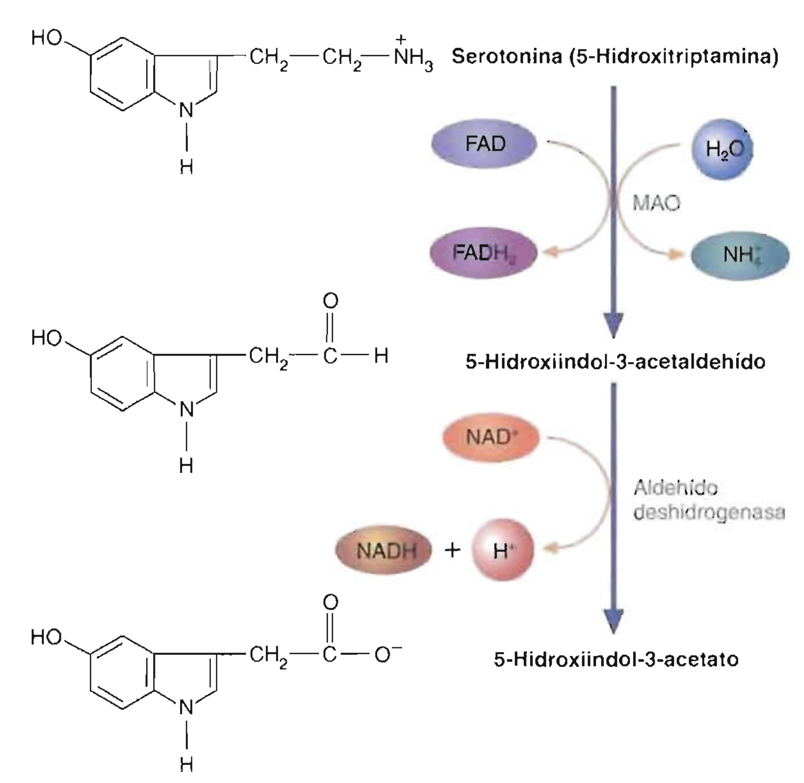


FIGURA 15-11

Degradación de la serotonina.

En la ruta catabólica principal, la serotonina se desamina y se oxida para formar 5-hidroxiindol-3-acetaldehído. Esta última molécula se oxida más para formar 5-hidroxiindol-3-acetato.

15.3 DEGRADACIÓN DE LOS NUCLEÓTIDOS

En la mayoría de los seres vivos, los nucleótidos de purina y pirimidina se están degradando constantemente. En los animales, la degradación se produce debido al recambio normal de los ácidos nucleicos y los nucleótidos, y la digestión de los ácidos nucleicos del alimento. Durante la digestión, los ácidos nucleicos se hidrolizan a oligonucleótidos por las enzimas denominadas **nucleasas**. (Los **oligonucleótidos** son segmentos cortos de ácidos nucleicos que contienen menos de 50 nucleótidos.) Las enzimas específicas de la rotura de enlaces internucleótidos en el DNA se denominan *desoxirribonucleasas* (DNasas), mientras que las que degradan el RNA se llaman *ribonucleasas* (RNasas). Una vez formados, los oligonucleótidos se siguen degradando por varias *fosfodiesterasas*, un proceso que da lugar a una mezcla de mononucleótidos. Las *nucleotidasas* eliminan los grupos fosfato de los nucleótidos, dando nucleósidos. Estas últimas moléculas se hidrolizan por las *nucleosidasas* a las bases libres y ribosa o desoxirribosa, que posteriormente se absorben. De forma alternativa, los nucleósidos pueden absorberse por los enterocitos intestinales.

En general, las bases púricas y pirimidínicas del alimento no se utilizan en cantidades significativas para sintetizar los ácidos nucleicos celulares, sino que se degradan dentro de los enterocitos. En el ser humano y los pájaros las purinas se degradan a ácido úrico. Las pirimidinas se degradan a β-alanina o a ácido β-aminoisobutírico, así como a NH_3 y CO_2. En contraste con los procesos catabólicos de otras clases principales de biomoléculas (p. ej., azúcares, ácidos grasos y aminoácidos), el catabolismo de las purinas y las pirimidinas no produce síntesis de ATP. A continuación se describen las principales rutas de la degradación de las bases púricas y pirimidínicas.

Catabolismo de las purinas

En la Figura 15-12 se esquematiza el catabolismo de los nucleótidos de purina. Existen variaciones de las rutas específicas que utilizan los diferentes organismos o tejidos para degradar el AMP. Por ejemplo, en el músculo, el AMP inicialmente se convierte en IMP por la AMP desaminasa (que también se denomina adenilato aminohidrolasa). A continuación, el IMP se hidroliza a inosina por la 5′-nucleotidasa. Sin embargo, en la mayoría de los tejidos, el AMP se hidroliza por la 5′-nucleotidasa para formar adenosina. Luego, la adenosina se desamina por la adenosina desaminasa (que también se denomina adenosina aminohidrolasa) para formar inosina.

La purina nucleósido fosfohidrolasa convierte la inosina, la guanosina y la xantosina en hipoxantina, guanina y xantina, respectivamente. (La ribosa-1-fosfato que se forma durante estas reacciones se reconvierte en PRPP por la fosforribomutasa.) La hipoxantina se oxida a xantina por la xantina oxidasa, una enzima que contiene molibdeno, FAD y dos centros Fe-S diferentes. (Las reacciones que cataliza la xantina oxidasa producen O_2^{-}, además de formar H_2O_2. La guanina se desamina a xantina por la guanina desaminasa (que también se denomina guanina aminohidrolasa.) Las moléculas de xantina se oxidan posteriormente a ácido úrico por la xantina oxidasa.

Varias enfermedades son consecuencia de defectos de las rutas catabólicas de las purinas. La *gota*, que suele caracterizarse por unas concentraciones sanguíneas elevadas de ácido úrico y ataques recurrentes de artritis, está producida por varias anomalías metabólicas (Recuadro de Interés Especial 15.4). En la actualidad, se conocen dos enfermedades diferentes con inmunodeficiencia que son consecuencia de defectos de las reacciones catabólicas de las purinas. En la *deficiencia de adenosina desaminasa*, las concentraciones elevadas de dATP inhiben la ribonucleótido reductasa. Como consecuencia, la síntesis de DNA se deprime. Por razones que aún no están claras, esta distorsión metabólica se observa principalmente en los linfocitos T y B. (Los *linfocitos T*, o **células T**, llevan en sus superficies moléculas semejantes a los anticuerpos. Se unen a las células ajenas y las destruyen en un proceso que se denomina **inmunidad celular**. Los *linfocitos B*, o **células B**, producen anticuerpos que se unen a sustancias ajenas, iniciando de esta manera su destrucción por otras células del sistema inmunitario. La producción de anticuerpos por las células B se denomina **respuesta inmunitaria humoral**.) Los niños con deficiencia de adeno-



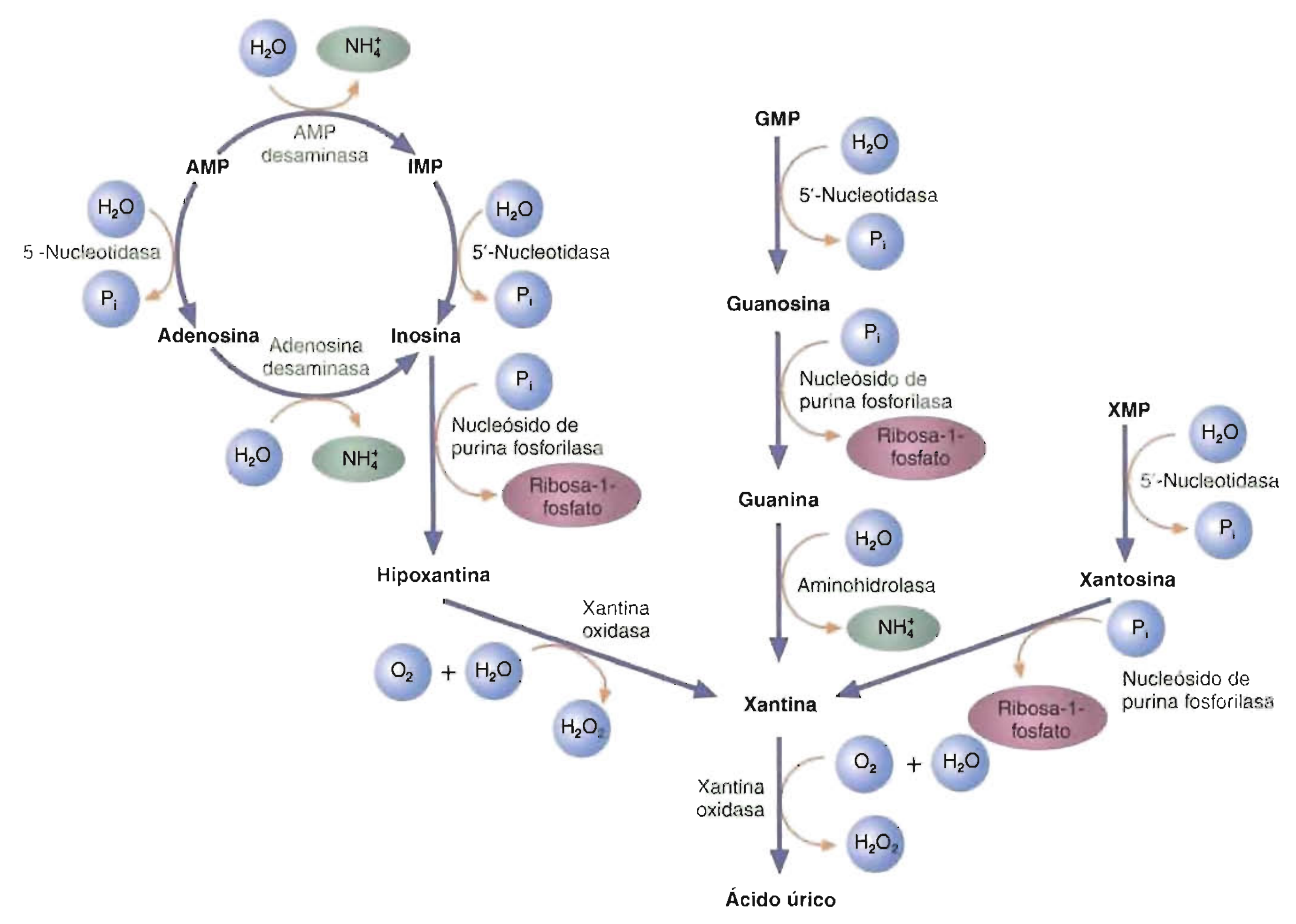


FIGURA 15-12

Catabolismo de los nucleótidos de purina.

La ribosa-1-fosfato se libera en el catabolismo del AMP, el GMP y el XMP. Las reacciones que cataliza la xantina oxidasa generan O_2^-.

sina desaminasa normalmente fallecen antes de los dos años de edad debido a infecciones masivas. En la *deficiencia de nucleósido de purina fosforilasa*, las concentraciones de los nucleótidos de purina son elevadas y disminuyen la síntesis de ácido úrico. Las concentraciones elevadas de dGTP aparentemente son las responsables del deterioro de las células T que es característico de esta enfermedad.

Muchos animales degradan más el ácido úrico (Fig. 15-13). La urato oxidasa convierte el ácido úrico en alantoína, un producto de eliminación en muchos mamíferos. La alantoinasa cataliza la hidratación de la alantoína para formar alantoato, que eliminan los peces óseos. Otros peces, así como los anfibios, producen alantoicasa, que fracciona el ácido alantoico en glioxilato y urea. Finalmente, los invertebrados marinos degradan la urea a NH_4^+ y CO_2 en una reacción catalizada por la ureasa.

PREGUNTA 15.7

Muchos animales, además de los primates y las aves, poseen la enzima urato oxidasa. Sugiera una razón por la que estos organismos no padecen gota.

PREGUNTA 15.8

Uno de los aspectos más fascinantes de la bioquímica es que los seres vivos utilizan la misma molécula para fines diferentes. Dos ejemplos interesantes son la alantoína y el alantoato. Como se ha mencionado anteriormente, estas dos moléculas actúan como desechos nitrogenados en varios grupos de animales. Algunas especies vegetales (esto es, determinadas legumbres como la soja y las alubias) comienzan a sintetizar alantoína y alantoato una vez que se han infectado con las bacterias fijadoras de nitrógeno. Ambas moléculas, que se denominan *ureidos*, son com-

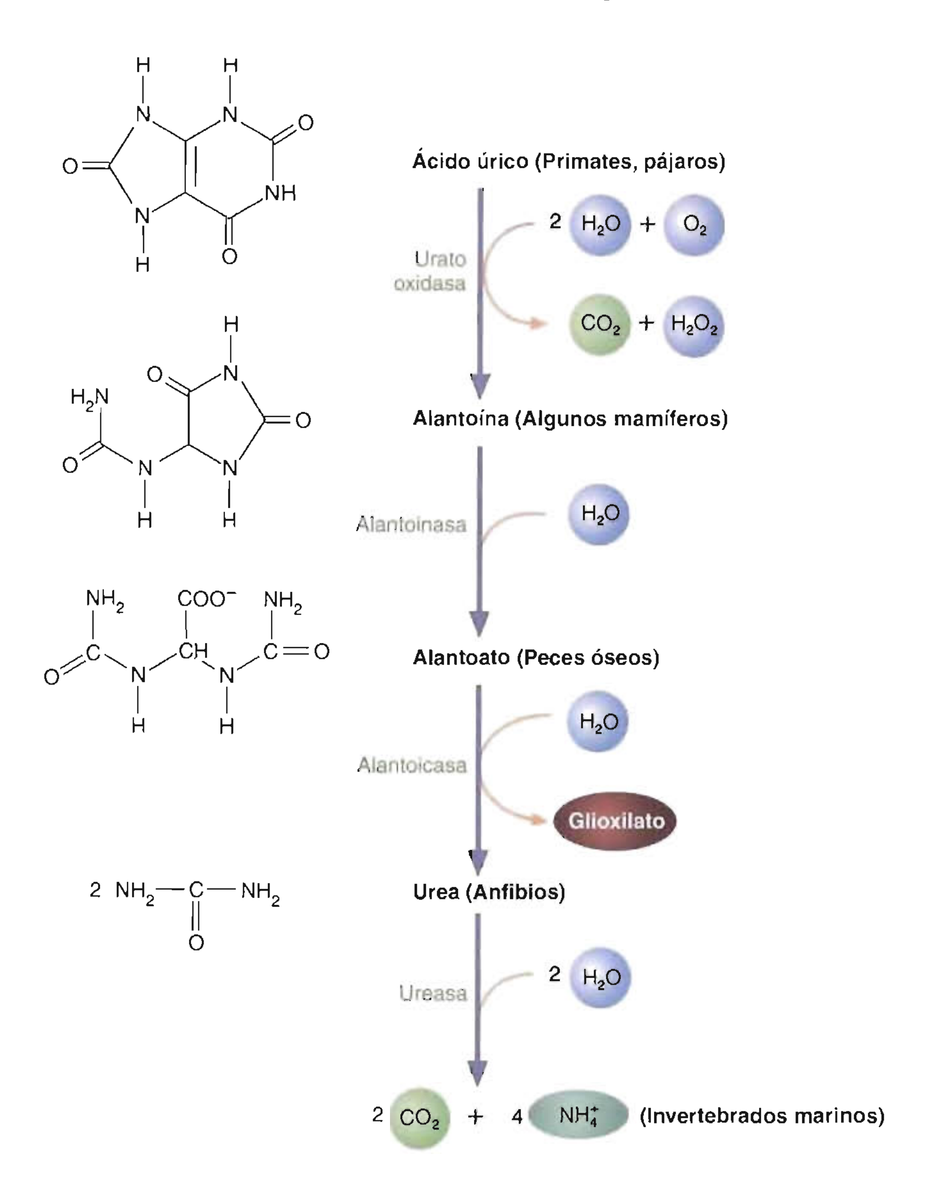


FIGURA 15-13

Catabolismo del ácido úrico.

Muchos animales poseen enzimas que les permiten convertir el ácido úrico en otros productos de eliminación. Se indican los productos de eliminación final de grupos específicos de animales.

puestos transportadores de nitrógeno. (Otras legumbres como los guisantes y la alfalfa, utilizan la asparagina para el transporte de nitrógeno estén infectadas o no.) Una vez sintetizados, los ureidos se transportan por los vasos leñosos hasta las hojas. En las hojas, se libera el nitrógeno y se utiliza principalmente para la síntesis de aminoácidos. El alantoato se degrada a glioxilato, cuatro moléculas de NH_4^+ y dos moléculas de CO_2 mediante tres reacciones que aún no están totalmente caracterizadas. De acuerdo con la información que se da en el Capítulo 14 y en este capítulo, rastree el transporte del NH_4^+ en los nódulos de las raíces hasta su incorporación en los aminoácidos en las hojas. Suponga que para sintetizar la alantoína y el alantoato como se observa en los animales se utilizan las mismas enzimas o semejantes.

Catabolismo de las pirimidinas

En los seres humanos, el anillo de purina no puede degradarse. Esto no es así para el anillo de pirimidina. En la Figura 15-14 se da un esquema del catabolismo de los nucleótidos de pirimidina.

Antes de que puedan degradarse, la citidina y la desoxicitidina se convierten en uridina y desoxiuridina, respectivamente, por reacciones de desaminación que cataliza la citidina desaminasa. De manera semejante, el desoxicitidilato (dCMP) se desamina para formar desoxiuridilato (dUMP). La última molécula se convierte pos-

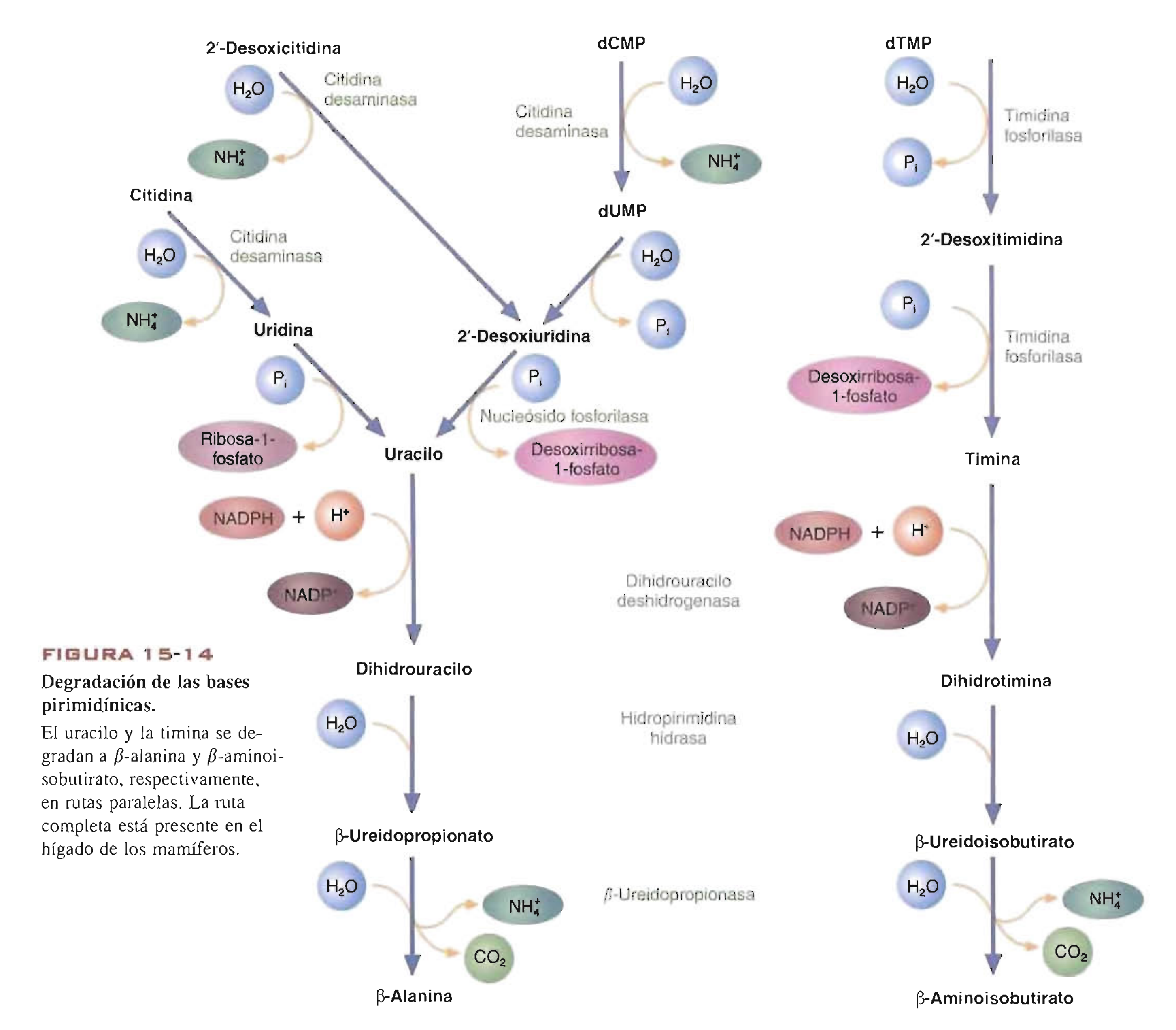


FIGURA 15-14
Degradación de las bases pirimidínicas.
El uracilo y la timina se degradan a β-alanina y β-aminoisobutirato, respectivamente, en rutas paralelas. La ruta completa está presente en el hígado de los mamíferos.

CONCEPTOS CLAVE 15.5

Diversas clases de enzimas degradan los ácidos nucleicos: nucleasas, fosfodiesterasas, nucleotidasas, nucleósido fosforilasas y nucleosidasas. Las bases de los nucleótidos de purina se degradan para formar el producto nitrogenado de desecho ácido úrico. La β-alanina y el β-aminoisobutirato son los productos nitrogenados de desecho del catabolismo de las bases pirimidínicas.

teriormente en desoxiuridina por la 5′-nucleotidasa. La uridina y la desoxiuridina se degradan aún más por la nucleósido fosforilasa para formar uracilo. La timina se forma a partir de timidilato (dTMP) por las acciones secuenciales de la 5′-nucleotidasa y la nucleósido fosforilasa.

El uracilo y la timina se convierten en sus productos finales, β-alanina y β-aminoisobutirato, respectivamente, en rutas paralelas. En el primer paso, el uracilo y la timina se reducen por la dihidrouracilo deshidrogenasa a sus correspondientes derivados dihidro. Al hidrolizarse estas últimas moléculas, se abren los anillos, dando β-ureidopropionato y β-ureidoisobutirato, respectivamente. Finalmente, la β-alanina y el β-aminoisobutirato se producen en reacciones de desaminación catalizadas por la β-ureidopropionasa.

En varios trastornos, el β-aminoisobutirato se produce en cantidades tan grandes que aparece en la orina. Entre ellas se encuentran una predisposición genética a una conversión lenta de β-aminoisobutirato en succinil-CoA y enfermedades que producen una destrucción celular masiva, como la leucemia. Debido a que es soluble, el exceso de β-aminoisobutirato no produce problemas comparables a los observados en la gota.

PREGUNTA 15.9 Identifique cada una de las siguientes biomoléculas. Explique cómo se producen.

(a) (b) (c)

PREGUNTA 15.10

Los productos del catabolismo de las base pirimidínicas, la β-alanina y el β-aminoisobutirato, pueden degradarse aún más a acetil-CoA y succinil-CoA, respectivamente. ¿Puede sugerir la clase de reacciones que se requieren para realizar estas transformaciones?

15.4 BIOTRANSFORMACIÓN DEL HEMO

La bilirrubina, un pigmento naranja, es el producto de un conjunto de reacciones que degradan los grupos hemo de varias hemoproteínas. Aproximadamente el 80% de los 250-400 mg/dL de bilirrubina que se forman diariamente proceden de la hemoglobina de los eritrocitos envejecidos. Esta conversión, que tiene lugar predominantemente en las células reticuloendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea,

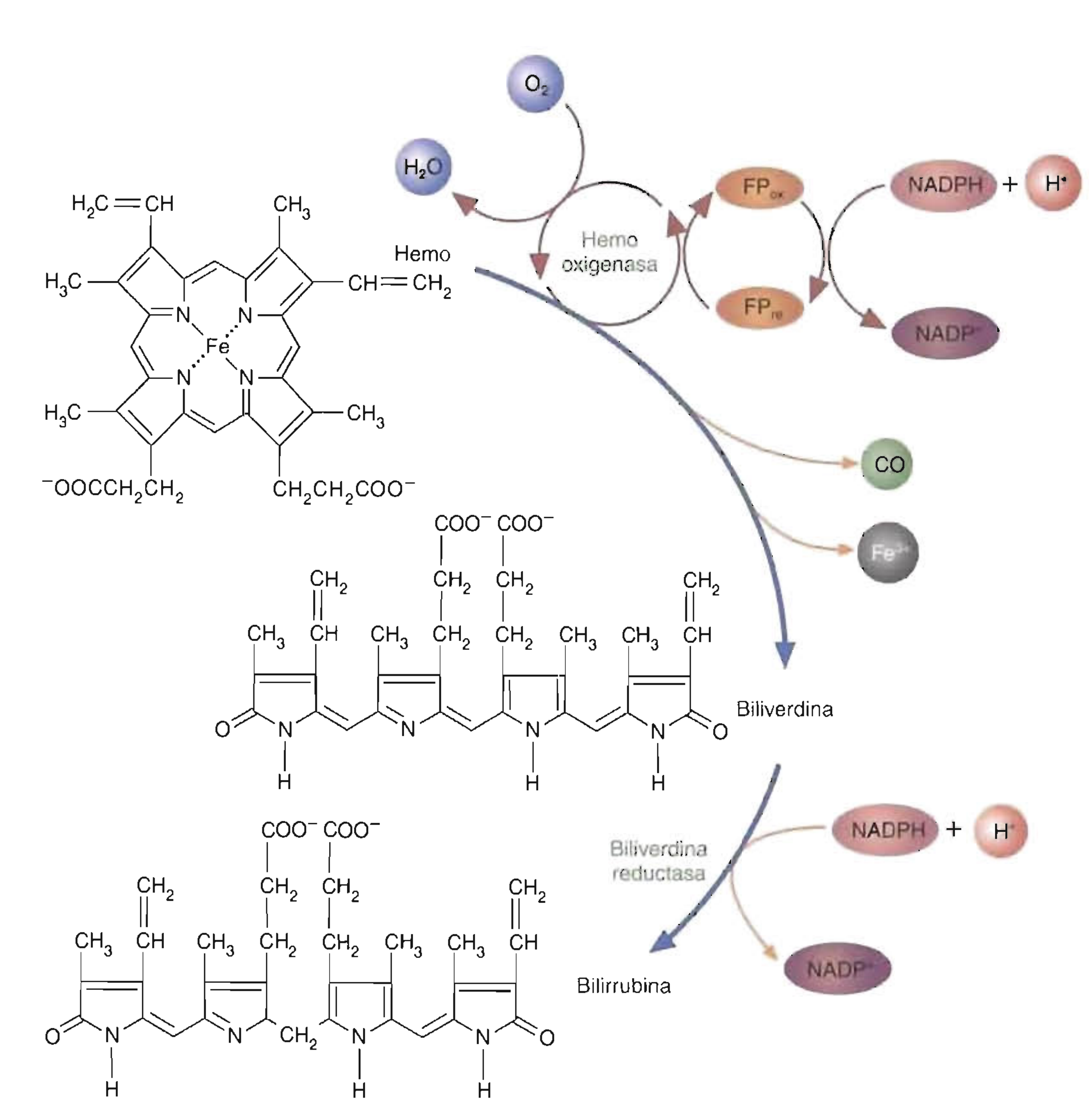


FIGURA 15-15
Síntesis de bilirrubina.
La hemo oxigenasa, que cataliza la conversión de los grupos hemo libres en biliverdina y CO, actúa como parte de un sistema de transporte microsómico semejante al del citocromo P_{450}. (FP = NADPH-citocromo P_{450} reductasa.) La hemo oxigenasa requiere 3 O_2 y 5 NADPH. La biliverdina reductasa puede utilizar como reductor NADPH o NADH.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 15.4. Gota

La gota es una enfermedad en la que en las articulaciones y alrededor de ellas se acumulan cristales de urato sódico. (El nombre de *gota* viene de «gutta», la palabra latina para «gota». De acuerdo con una creencia antigua, una sustancia venenosa cae gota a gota dentro de las articulaciones.) Esta acumulación, que tiene lugar debido a la **hiperuricemia** (concentraciones sanguíneas elevadas de ácido úrico, superiores a 7 mg/dL en los hombres y 6 mg/dL en las mujeres), produce una forma de artritis (inflamación de las articulaciones). Los ataques iniciales de artritis gotosa normalmente son agudos (repentinos) y suelen afectar al dedo gordo del pie, aunque también pueden estar afectadas otras articulaciones del pie o de la pierna. La inflamación que produce la acumulación de los cristales de urato atrae a los leucocitos que capturan los cristales. Se produce una mayor destrucción tisular cuando los cristales de urato rompen las membranas lisosómicas de los leucocitos, dando lugar a la liberación de las enzimas lisosómicas a los tejidos. Además, pueden formarse cerca de las articulaciones estructuras visibles que se denominan tofos y que producen deformaciones grotescas. La acumulación de cristales de urato dentro del riñón da lugar al deterioro de la función renal. Aunque la hiperuricemia es un factor que necesariamente predispone a la gota, por razones desconocidas sólo un porcentaje pequeño de personas con concentraciones sanguíneas elevadas de ácido úrico manifiestan los síntomas clásicos de la gota. Las circunstancias que pueden provocar artritis gotosa son una ingestión excesiva de alimento y/o alcohol, o la inanición.

Existen dos formas de gota: primaria y secundaria. La *gota primaria* suele estar producida por defectos genéticos del metabolismo de las purinas. Por ejemplo, diversas variantes de ribosa-5-fosfato pirofosfoquinasa no se regulan de forma eficaz por los inhibidores alostéricos (p. ej., P_i, GDP o ADP). Como consecuencia, aumentan las concentraciones de PRPP, produciendo un aumento de la síntesis de nucleótidos de purina. (Recuerde que la concentración de PRPP es un regulador importante de la síntesis de nucleótidos de purina.) La sobreproducción de nucleótidos de purina conduce a un aumento de la síntesis de ácido úrico. La deficiencia de HGPRT también produce hiperuricemia debido a un descenso del salvamento de las bases púricas. La hiperuricemia también puede producirse por defectos genéticos de otras rutas. Por ejemplo, en la deficiencia de glucosa-6-fosfatasa, se produce hipoglucemia en las personas afectadas debido a que no pueden producir glucosa sanguínea a partir de glucosa-6-fosfato. Consecuentemente, las concentraciones elevadas de glucosa-6-fosfato en el hígado estimulan la síntesis de ribosa-5-fosfato y PRPP.

La *gota secundaria* (o adquirida) está producida por trastornos aparentemente no relacionados. Estos trastornos pueden producir hiperuricemia, bien por una sobreproducción de ácido úrico o bien por un descenso de su eliminación por los riñones. Por ejemplo, los pacientes leucémicos sobreproducen ácido úrico por una destrucción celular masiva o por el tratamiento de quimioterapia que requieren para destruir las células cancerosas. La hiperuricemia también se produce cuando determinados fármacos interfieren con la secreción renal de ácido úrico en la orina. Los pacientes con envenenamiento por plomo tienen muchas probabilidades de padecer gota debido al daño renal.

La gota se trata con dieta y con varios fármacos. El control dietético (es decir, la reducción del consumo de alimentos con abundantes ácidos nucleicos como el hígado y las sardinas) reduce la síntesis de ácido úrico en algunas personas que son susceptibles a la gota primaria. El alopurinol y la colchicina suelen utilizarse en el tratamiento de la gota. Debido a que el alopurinol inhibe la xantina oxidasa, anula la síntesis de ácido úrico. (El alopurinol se convierte en aloxantina por la xantina oxidasa. La aloxantina actúa como inhibidor competitivo de la enzima.) La hipoxantina y la xantina, cuyas concentraciones aumentan con el tratamiento con alopurinol, se eliminan con facilidad debido a sus propiedades de solubilidad. Además, la conversión de alopurinol en alopurinol ribonucleótido por la HGPRT reduce las concentraciones de PRPP. Esta circunstancia hace disminuir la síntesis de nucleótidos de purina. La colchicina, un alcaloide que destruye los microtúbulos, reduce la inflamación de las articulaciones. Actualmente se cree que la colchicina actúa frente a la inflamación interfiriendo en la actividad de los leucocitos.

Gota saturnina

Hace años, la gota se asoció con alimentaciones abundantes y especialmente con un consumo excesivo de bebidas alcohólicas. En los últimos años esta asociación se ha desestimado debido a que muchas personas llevan vidas con excesos sin presentar gota. Sin embargo, la investigación clínica reciente y algún trabajo histórico detectivesco indican que la vieja conexión entre la gota y las bebidas alcohólicas puede haber sido exacta.

Hasta bien entrado el siglo XIX muchas botellas de vino y otras bebidas alcohólicas estaban contaminadas con plomo. Por ejemplo, el consumo a gran escala de vino de Oporto por la clase acomodada inglesa durante el siglo XVIII se cree en la actualidad que fue el responsable, en gran medida, de la epidemia de gota que se produjo entre esta población. (Los vinos de Oporto se importaban de Portugal. Para hacer máximos sus beneficios, los exportadores portugueses añadían sales de plomo, que son conservantes muy eficaces. En los últimos años, se han analizado botellas de vino de oporto de ese siglo y se ha encontrado que contienen grandes cantidades de plomo.) De forma semejante, en el pasado, el ron solía almacenarse en contenedores revestidos con barnices que contenían plomo.

El término *gota saturnina* refleja la conexión que varios médicos del siglo XIX realizaron entre la gota y la exposición al plomo. (Los alquimistas medievales creían que el planeta Saturno tenía propiedades semejantes al plomo.) La demostración de la conexión ha sido más difícil. Debido a que el hueso es el principal reservorio del plomo (tanto el calcio como el plomo son divalentes), la exposición crónica al plomo con frecuencia puede no diagnosticarse fácilmente. El plomo puede transferirse en cantidades pequeñas desde el hueso a los tejidos, como el riñón, durante largos períodos de tiempo. Consecuentemente, el daño tisular puede continuar durante años tras la exposición original al plomo. Bastante antes de que se haga evidente la lesión tisular, las concentraciones sanguíneas de plomo han vuelto a valores cercanos a los normales. En la actualidad, se cree que la gota saturnina está producida por la hiperuricemia consecuencia del daño renal. Aunque el daño del riñón es irreversible, puede evitarse un mayor daño eliminando el plomo del cuerpo con un tratamiento quelante. Un agente quelante como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) se une al plomo con una mayor afinidad que al calcio. (Los agentes quelantes son moléculas con grupos carboxilato que unen cationes metálicos. El EDTA se une a los metales con dos o más cargas positivas.) Debido a que el quelato plomo-EDTA es soluble, se elimina por la orina.

tiene lugar en dos fases (Fig. 15-15). Durante la primera fase, el hemo se oxida por la hemo oxigenasa, una enzima del RE que es un componente de un sistema de transporte electrónico semejante al del citocromo P_{450} (Recuadro de Interés Especial 10.1). Los productos de esta reacción son el pigmento verde oscuro biliverdina y el monóxido de carbono (CO). Durante la segunda fase, la biliverdina se convierte en bilirrubina en una reacción catalizada por la enzima citoplásmica biliverdina reductasa. Mientras tanto, el CO difunde fuera de la célula, luego se transporta en la sangre a los pulmones donde abandona el cuerpo en la espiración.

La bilirrubina producto es un compuesto muy tóxico. Por ejemplo, se sabe que inhibe la síntesis de RNA y de proteínas y el metabolismo de los hidratos de carbono en el cerebro. Las mitocondrias parecen ser especialmente sensibles a sus efectos. La bilirrubina también es una molécula cuya producción metabólica es cara. Por ejemplo, la bilirrubina es virtualmente insoluble en agua, debido a los enlaces de hidrógeno intramoleculares. Por lo tanto, (Fig. 15-16) para la eliminación como componente de la bilis en el tubo digestivo se requieren mecanismos de transporte sofisticados y reacciones de conjungación en el hígado. Debido a que la bilirrubina crea tantos problemas, se han dedicado esfuerzos considerables para elucidar su finalidad. (Muchas especies, como los anfibios, los reptiles y las aves, excretan el precursor hidrosoluble biliverdina.) Debido a que reacciona con los radicales peroxi. la bilirrubina puede actuar como un antioxidante. Durante el transporte de la bilirrubina en la sangre, el pigmento eliminador de radicales se distribuye por el sistema circulatorio. (La asociación de la bilirrubina con la proteína plasmática albúmina protege a las células de los efectos tóxicos de la molécula.)

CONCEPTOS CLAVE 15.6

El grupo hemo de las hemoproteínas se convierte en primer lugar en biliverdina y luego en bilirrubina. Tras ser objeto de reacciones de conjugación en el hígado, la bilirrubina se elimina en la bilis.

Bilirrubina

UDPGA

UDP-Glucuronil transferasa

UDP

Monoglucurónido de bilirrubina

+

Diglucurónido de bilirrubina

FIGURA 15-16

Conjugación de la bilirrubina.

Antes de ser eliminada en la bilis, sus grupos carboxilo de los propionilo se esterifican con ácido glucurónico para formar monoglucurónidos y diglucurónidos. (UDPGA = ácido UDP-glucurónico.) El diglucurónido es la forma principal que se produce en muchos animales. En diversas especies, especialmente en los mamíferos, se requiere la conjugación de la bilirrubina para su secreción eficaz a la bilis.

RESUMEN

1. Los animales están constantemente sintetizando y degradando las moléculas nitrogenadas, como las proteínas y los ácidos nucleicos. El recambio proteico se cree que proporciona a las células flexibilidad metabólica, protección frente a la acumulación de proteínas anómalas y la destrucción oportuna de las proteínas durante los procesos del desarrollo. La ubiquitina es una proteína de agresión que desempeña un papel importante en el direccionamiento de las proteínas para su destrucción.
2. En general, la degradación de los aminoácidos comienza con su desaminación. La mayor parte de las desaminaciones se realizan mediante reacciones de transaminación, a las que siguen desaminaciones oxidativas que producen amoníaco. Aunque la mayoría de las desaminaciones están catalizadas por la glutamato deshidrogenasa, otras enzimas contribuyen también a la formación de amoníaco. El amoníaco se prepara para su eliminación por las enzimas del ciclo de la urea. El aspartato y el CO_2 también contribuyen con átomos a la urea.
3. Los aminoácidos se clasifican en cetogénicos o glucogénicos de acuerdo a si sus esqueletos carbonados se convierten en ácidos grasos o en glucosa. Varios aminoácidos pueden clasificarse como cetogénicos y glucogénicos debido a que sus esqueletos carbonados son precursores de grasas e hidratos de carbono.
4. La degradación de los neurotransmisores es decisiva para el funcionamiento adecuado de la transferencia de información en los animales. Los neurotransmisores aminados como la acetilcolina, las catecolaminas y la serotonina se encuentran entre los ejemplos más estudiados.
5. El recambio de los ácidos nucleicos se realiza mediante varias clases de enzimas. Las nucleasas degradan los ácidos nucleicos a oligonucleótidos. (Las desoxirribonucleasas degradan el DNA y las ribonucleasas degradan el RNA.) Las fosfodiesterasas convierten los oligonucleótidos en mononucleótidos. La eliminación de los grupos fosfato por las nucleotidasas convierte a los nucleótidos en nucleósidos. Las nucleosidasas hidrolizan los nucleósidos para formar las bases libres y ribosa o desoxirribosa. Las nucleósido fosforilasas convierten los ribonucleósidos en las bases libres y ribosa-1-fosfato. Los ácidos nucleicos del alimento generalmente se degradan en el intestino y no se usan en las rutas de salvamento. Las purinas celulares se convierten en ácido úrico. Muchos animales degradan aún más el ácido úrico debido a que producen enzimas que no se encuentran en los primates. Las bases pirimidínicas se degradan a β-alanina (UMP, CMP, dCMP) o β-aminoisobutirato (dTMP).
6. La porfirina hemo se degrada para formar el producto de eliminación bilirrubina en un proceso de biotransformación en el que actúan las enzimas hemo oxigenasa, biliverdina reductasa y UDP-glucuronosiltransferasa. Tras experimentar una reacción de conjugación, la bilirrubina se elimina como componente de la bilis.

LECTURAS RECOMENDADAS

Adams, J. D. Jr., Chang, M. L., and Klaidman, L., Parkinson's Disease—Redox Mechanisms, *Curr. Med. Chem.*, 8(7):809-814, 2001.

Bachmair, A., Finley, D., and Varshavsky, A., *In vivo* Half-Life of a Protein Is a Function of Its Amino-Terminal Residue, *Science*, 234:179-186, 1986.

Chain, D. G., Schwartz, J. H., and Hegde, A. N., Ubiquitin-Mediated Proteolysis in Learning and Memory, *Mol. Neurobiol.*, 20(2-3):125-142, 1999.

Hershko, A., The Ubiquitin Pathway for Protein Degradation, *Trends Biochem. Sci.*, 16(7):265-268, 1991.

Hilt, W., and Wolf, D. H., Proteasomes: Destruction as a Programme, *Trends Biochem. Sci.*, 21(3):96-102, 1996.

Holmes, F. L., Hans Kbres and the Discovery of the Ornithine Cycle, *Fed. Proc.*, 39:216-225,1980.

Rechsteiner, M., and Rogers, S. W., PEST Sequences and Regulation by Proteolysis, *Trends Biochem. Sci.*, 21(7):267-271,1996.

Weissman, A. M., Themes and Variations on Ubiquitylation, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2(3):169-178, 2001.

Wellner, D., and Meister, A., A Survey of Inborn Errors of Amino Acid Metabolism and Transport in Man, *Ann. Rev. Biochem.*, 50:911-968, 1981.

Winkler, R. G., Blevins, D. G., Polacco, J. C. and Randall, D. D., Ureide Catabolism in Nitrogen-Fixing Legumes, *Trends Biochem. Sci.*, 13:97-100, 1988.

PALABRAS CLAVE

agonista, *520*
biciclo de Krebs, *508*
célula B, *521*
célula T, *521*
cetogénico, *504*
ciclo de la urea, *506*
ciclo de la urea de Krebs, *506*
chaperonas moleculares, *504*
glucogénico, *504*
hiperamonemia, *509*
hiperuricemia, *526*
inmunidad celular, *521*
intoxicación por amoníaco, *509*
mutación, *519*
nucleasa, *521*
oligonucleótido, *521*
proteína de choque térmico, *504*
proteosoma, *504*
recambio proteico, *504*
respuesta inmunitaria humoral, *521*
ruta de transulfuración, *516*
ubiquinación, *504*
ubiquitina, *504*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina los siguientes términos:
   a. desnitrificación
   b. amoniotélico
   c. recambio proteico
   d. ubiquinación
   e. intoxicación por amoníaco
   f. respuesta inmunitaria humoral
   g. hiperuricemia

2. ¿Cuáles son las principales moléculas que se utilizan para eliminar el nitrógeno?
3. ¿Cuáles son los tres fines para los que sirve el recambio proteico?
4. ¿Cuáles son las características estructurales de las proteínas que las marcan para su destrucción?
5. ¿Cuáles son los siete productos metabólicos que produce la degradación de los aminoácidos?
6. Indique cuáles de los siguientes aminoácidos son cetogénicos y cuáles son glucogénicos:
   a. tirosina
   b. lisina
   c. glicina
   d. alanina
   e. valina
   f. treonina
7. Describa cómo se degrada cada uno de los siguientes aminoácidos:
   a. lisina
   b. glutamato
   c. glicina
   d. aspartato
   e. tirosina
   f. alanina
8. En los seres humanos el anillo de purina no puede degradarse. ¿Cómo se excreta? ¿Qué reacciones participan?
9. El ciclo de la urea tiene lugar parcialmente en el citosol y parcialmente en las mitocondrias. Comente las reacciones del ciclo de la urea con referencia a sus localizaciones celulares.
10. Describa cómo actúa el ciclo glucosa-alanina para transportar el amoníaco al hígado.
11. En las personas con PKU, ¿es la tirosina un aminoácido esencial?
12. La formación de urea es energéticamente cara, requiriendo el gasto de 4 mol de ATP por mol de urea que se forma. Sin embargo, se produce NADH cuando el fumarato se reconvierte en aspartato. ¿Cuántas moléculas de ATP se producen por la oxidación mitocondrial del NADH? ¿Cuál es el requerimiento neto de ATP para la síntesis de urea?
13. Describa el biciclo de Krebs. ¿Qué compuesto liga los ciclos del ácido cítrico y de la urea?
14. La mayoría de los aminoácidos se degradan en el hígado. Esto no es cierto para los aminoácidos de cadena ramificada. ¿Dónde se degradan principalmente?
15. Describa cómo se señala una proteína para su degradación?
16. Proporcione los nombres de los organismos que utilizan las siguientes sustancias como moléculas nitrogenadas de desecho:
   a. ácido úrico
   b. urea
   c. alantoato
   d. NH_4^+
   e. alantoína
17. ¿Cuáles de las siguientes moléculas proporciona ácido úrico cuando se degrada?
   a. DNA
   b. FAD
   c. CTP
   d. PRPP
   e. β-alanina
   f. urea
   g. NAD^+

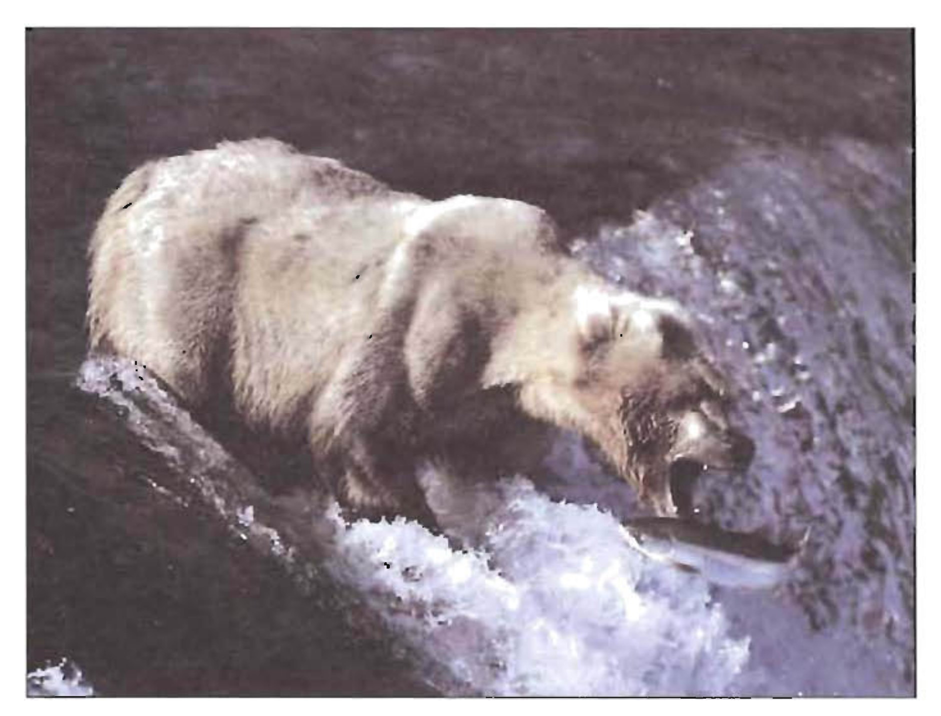
PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Los mamíferos eliminan la mayoría de los átomos de nitrógeno como urea. El proceso requiere el gasto de cantidades considerables de energía del ATP. ¿Por qué no es práctico eliminar el nitrógeno como amoníaco como lo hacen algunas especies acuáticas? ¿Qué efectos tóxicos tendría esto sobre los mamíferos?
2. Describa de qué forma el aumento de las concentraciones de amoníaco estimula la formación de N-acetilglutamato y pone en marcha el ciclo de la urea.
3. Explique cómo puede producir concentraciones elevadas de amoníaco una enzima defectuosa del ciclo de la urea.
4. La PKU puede producirse por deficiencias de la fenilalanina hidroxilasa y por enzimas que catalizan la formación y regeneración de 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina. ¿Cómo puede este segundo defecto producir los síntomas de la PKU?
5. Las personas que no pueden producir 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina deben recibir L-dopa y 5-hidroxitriptófano. ¿Por qué no tiene efecto el aporte de 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina?
6. En sus estudios *in vitro* utilizando cortes de hígado, Krebs y Henseleit observaron que la adición de ornitina, citrulina y arginina estimulaba la formación de urea. Otros aminoácidos no producían ningún efecto. Explique estas observaciones.
7. Especifique qué tipo de unidad de un carbono se transfiere por cada uno de los siguientes compuestos:
   a. N^5, N^{10}-metileno THF
   b. serina
   c. colina
   d. S-adenosilmetionina
8. La cafeína, una xantina metilada que se encuentra en el chocolate, el café y el té se eliminan en forma de ácido úrico. Utilizando sus conocimientos sobre el metabolismo de otros compuestos de purina, sugiera como se metaboliza la cafeína.
9. Algunos animales que viven en medio líquido eliminan nitrógeno en forma de amoníaco. Los animales terrestres, que conservan el agua, eliminan urea y ácido úrico. ¿Cómo ayuda el agua a conservar la eliminación de estas moléculas?

CAPÍTULO DIECISÉIS

Integración del metabolismo

SUMARIO



El alimento que consumen los animales proporciona los nutrientes que requieren sus cuerpos para mantener los procesos vivos. Diversos mecanismos reguladores complejos aseguran que se satisfacen de forma consistente las demandas energéticas y de metabolitos de todas las células.

Los capítulos anteriores han considerado varios temas importantes, por ejemplo, el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y otras moléculas. Sin embargo, el total no es la suma de sus partes. Los organismos multicelulares son extraordinariamente complejos, más de lo que pueden sugerir sus componentes. El Capítulo 16 ofrece una visión más amplia del funcionamiento del cuerpo de los mamíferos. Inicialmente, se considera la división del trabajo que permite el funcionamiento sofisticado del organismo multicelular. A continuación se considera el ciclo alimentación-ayuno, un proceso multiorgánico complejo. Luego se describen las hormonas y los factores de crecimiento, las principales herramientas de la comunicación intercelular, y sus mecanismos de acción. El Capítulo 16 incluye también una consideración de la diabetes mellitus, una enfermedad que tiene unos efectos metabólicos amplios.

En este momento debe quedar claro que el mantenimiento de los procesos vivos en los organismos multicelulares es un tema complicado. Recuerde que, a pesar de las variaciones de los ambientes externo e interno, estos organismos deben mantener de forma constante unas condiciones de funcionamiento adecuadas (si no óptimas), ya que simultáneamente se ocupan de actividades de crecimiento y reparación. Para realizar estas funciones, deben estar reguladas de forma precisa las rutas de reacción anabólicas y catabólicas que utilizan los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas como fuentes de energía y como precursores para la biosíntesis. Como se ha descrito, los organismos multicelulares pueden explotar de forma eficaz su entorno debido a la división del trabajo entre sus células, tejidos y órganos constituyentes. Los mamíferos, el grupo de organismos multicelulares que se ha investigado con más detalle, poseen una división del trabajo sofisticada y mutuamente beneficiosa. Cada órgano realiza funciones específicas que cubren a corto y a largo plazo los intereses del organismo.

La operación de un sistema tan complejo como el cuerpo se mantiene por un flujo continuo de información entre sus partes. Un sistema sencillo de transferencia de información está formado por un estímulo que envía un expedidor, un transportador del mensaje (o mensajero) y un receptor. En un sistema así, sólo es posible una respuesta a la señal. Sin embargo, los sistemas fisiológicos son extraordinariamente complejos y requieren respuestas finamente moduladas a los estímulos complejos. Además, para una función coordinada, cada parte del cuerpo también debe recibir información sobre lo que acontece en otras partes. Debido a que los organismos multicelulares son organizaciones jerárquicas de células, tejidos y sistemas orgánicos, no es sorprendente que se requieran un gran número de señales, transportadores de mensajes y receptores. En el cuerpo de los mamíferos, las hormonas realizan una gran parte de la transferencia de información. Estas moléculas mensajeras están organizadas en jerarquías complejas que permiten un grado elevado de regulación sofisticada.

En el Capítulo 16, el enfoque de la exposición es la integración de los principales procesos metabólicos en los mamíferos. El capítulo comienza con una visión general de los procesos metabólicos y una descripción de la contribución de diversos órganos esenciales. A continuación se presenta el ciclo alimentación-ayuno, que explica varios mecanismos importantes de control. El Capítulo 16 finaliza con una breve revisión de las principales hormonas de los mamíferos y sus mecanismos de acción.

16.1. VISIÓN GENERAL DEL METABOLISMO

Las rutas metabólicas centrales son comunes a la mayoría de los organismos. A lo largo de la vida de un organismo, existe un equilibrio preciso entre los procesos anabólicos (de síntesis) y catabólicos (de degradación). En la Figura 16-1 se expone una visión general de las principales rutas anabólicas y catabólicas en los heterótrofos como los animales. Al crecer y madurar un animal joven, la acción de los procesos anabólicos es mayor que la de los procesos catabólicos. Al alcanzarse la edad adulta, los procesos anabólicos se hacen más lentos y el crecimiento esencialmente se detiene. A lo largo del resto de su vida (excepto durante las enfermedades y el embarazo), los tejidos del animal se encuentran en un estado metabólico estacionario. En un **estado estacionario**, la velocidad de los procesos anabólicos es aproximadamente igual a la de los procesos catabólicos. Por consiguiente, la apariencia y el funcionamiento del animal cambian poco de un día a otro. Sólo en períodos de tiempo largos aparecen las señales inevitables del envejecimiento.

¿Cómo son capaces de mantener los animales (y otros organismos multicelulares) el equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos al responder y adaptarse a las variaciones de su entorno? La respuesta a esta pregunta no se entiende totalmente. Sin embargo, se piensa que diversas formas de comunicación intercelular desempeñan una función importante. La mayor parte de la comunicación intercelular se produce mediante señales químicas. Una vez liberadas al ambiente extrace-

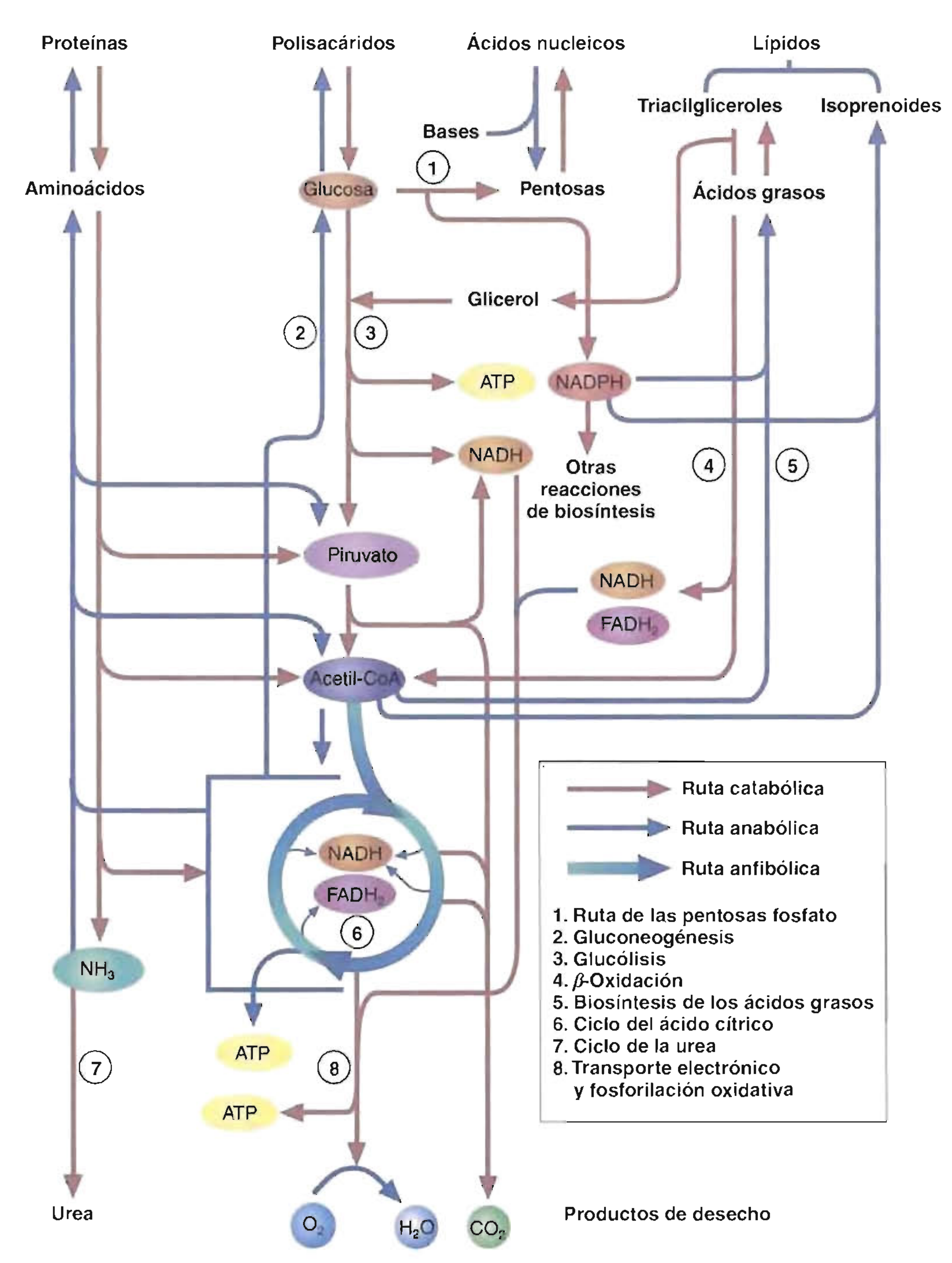


FIGURA 16-1
Visión general del metabolismo.
En esta visión general simplificada del metabolismo, se presentan las rutas anabólicas y catabólicas de las principales moléculas de alimento de los heterótrofos (es decir, aquellas rutas bioquímicas que sintetizan, degradan o interconvierten biomoléculas importantes y generan energía).

lular, cada señal química es reconocida por células específicas (que se denominan **células diana**), las cuales responden de una forma específica. La mayoría de las señales químicas son aminoácidos modificados, derivados de ácidos grasos, péptidos, proteínas o esteroides.

En los animales, los sistemas nervioso y endocrino son los principales responsables de la coordinación del metabolismo. El sistema nervioso proporciona un mecanismo rápido y eficaz para adquirir y procesar la información del entorno. Las células nerviosas, que se denominan neuronas, liberan los neurotransmisores (Sección 14.3) en los extremos de largas extensiones celulares que se denominan axones, a minúsculos espacios intercelulares que se denominan sinapsis. Las moléculas del neurotransmisor se unen a las células cercanas, generando respuestas específicas de estas células.

CONCEPTOS CLAVE 16.1

A lo largo de la vida, los organismos presentan un equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos, de forma que pueden cubrir sus necesidades metabólicas respondiendo a las variaciones ambientales. Las hormonas controlan en gran medida la transferencia de información que mantiene los procesos vivos.

La regulación metabólica por el sistema endocrino se realiza por la secreción de señales químicas, que se denominan hormonas, directamente a la sangre. El sistema endocrino está formado por células especializadas, muchas de las cuales se encuentran en glándulas. Tras segregarse las moléculas de hormona, viajan por la sangre hasta que alcanzan una célula diana. La mayoría de los cambios del funcionamiento celular inducidos por las hormonas son consecuencia de alteraciones de la actividad o concentración de las enzimas. Las hormonas interaccionan con las células mediante su unión a moléculas receptoras específicas. Los receptores de la mayoría de las moléculas hidrosolubles (p. ej., polipéptidos y adrenalina) se encuentran sobre la superficie de las células diana. La unión de estas hormonas a los receptores de la membrana desencadena una respuesta intracelular. Las acciones intracelulares de muchas hormonas se producen por medio de un grupo de moléculas denominadas **segundos mensajeros**. (La molécula hormonal es el primer mensajero.) Se han identificado varios segundos mensajeros, entre los que se encuentran los nucleótidos AMP cíclico (cAMP) y GMP cíclico (cGMP), los iones calcio y el sistema fosfolipídico del inositol. La mayoría de los segundos mensajeros actúan modulando enzimas, con frecuencia mediante un dispositivo de amplificación potente, que se denomina cascada enzimática. En una *cascada enzimática* (Fig. 16-2), las enzimas experimentan transiciones conformacionales que las llevan de sus formas inactivas a sus formas activas, o a la inversa, en una disposición que aumenta secuencialmente, lo que conduce a una amplificación sustancial de la señal original. Este proceso suele iniciarse cuando se une un segundo mensajero a una enzima específica. Por ejemplo, la unión del AMPc a la proteína quinasa A inactiva la convierte en la proteína quinasa A activa, la cual, a su vez, modifica la actividad de muchas enzimas diana mediante fosforilación. La señal original genera una respuesta amplificada y diversificada, por un segundo mensajero (a nivel de la señal) en algunos casos, y una cascada enzimática (a nivel catalítico) en la mayoría de los casos. Un sistema cAMP realiza la amplificación a ambos niveles.

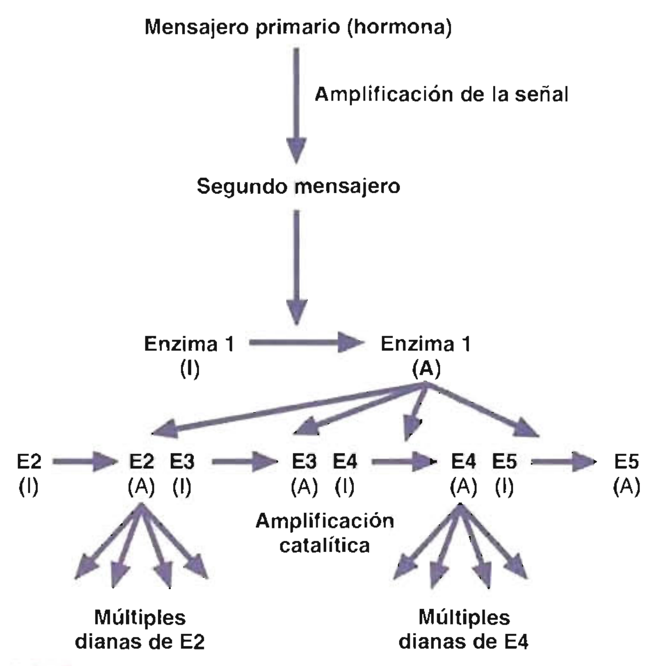


FIGURA 16-2

Cascada enzimática de amplificación.

Una cascada enzimática es un mecanismo potente en el que se activan secuencialmente un conjunto de enzimas. La activación suele iniciarse por una molécula de segundo mensajero (amplificación de señal). La enzima activada por el segundo mensajero modifica muchas copias de determinadas enzimas diana. Aquellas enzimas diana que se activan en el proceso de modificación también modifican muchas copias de un segundo conjunto de proteínas diana. Estas respuestas enzimáticas expandidas se denominan amplificación catalítica (I =inactiva, A = activa).

Las hormonas esteroideas son moléculas liposolubles que actúan por un mecanismo diferente. Una vez que una hormona esteroidea ha difundido dentro de una célula, se une a una proteína receptora específica del citoplasma. El complejo hormona-receptor se desplaza al núcleo donde se une a lugares específicos del DNA. Los complejos esteroide-receptor alteran el patrón y la tasa celular de transcripción de los genes y, en última instancia, la síntesis de proteínas. (Este tema se presenta en el Capítulo 18.) Las hormonas tiroideas actúan de manera semejante.

La investigación demuestra cada vez más que la distinción entre los sistemas nervioso y endocrino no es tan clara como se había pensado. Por ejemplo, determinadas células nerviosas, que se denominan células neurosecretoras, sintetizan y liberan hormonas a la sangre. La oxitocina y la vasopresina (véase la pág. 125) son dos ejemplos destacados. Además, varios neurotransmisores actúan a través de segundos mensajeros. La adrenalina, que puede actuar como neurotransmisor y hormona, induce efectos específicos del tejido que dependen de la naturaleza del receptor al que se une.

PREGUNTA 16.1

Revise la activación de la degradación del glucógeno estimulada por la adrenalina (Fig. 8-17). Identifique los siguientes componentes de transducción de señal de este proceso bioquímico: señal, mensajero y receptor.

16.2. DIVISIÓN DEL TRABAJO

Cada órgano del cuerpo de un mamífero tiene varias funciones que contribuyen a la función del individuo. Por ejemplo, algunos órganos son consumidores de energía, de forma que pueden realizar determinadas funciones que necesitan energía (p. ej., la contracción muscular). Otros órganos, como los del tubo digestivo, son responsables de suministrar de forma eficaz moléculas nutrientes con abundante energía para su uso en otros lugares. A continuación se presentan las funciones de varios órganos con relación a sus contribuciones metabólicas.

Intestino delgado

La función más evidente del intestino delgado es la digestión de los nutrientes, como los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas, y proporcionar moléculas lo suficientemente pequeñas para que puedan absorberse (azúcares, ácidos grasos, glicerol y aminoácidos). La absorción de nutrientes por los enterocitos del intestino delgado es un proceso extremadamente vital y complicado que implica numerosas enzimas y mecanismos de transporte. Como se ha descrito (pág. 374), a continuación los enterocitos transportan estas moléculas (y agua, minerales, vitaminas y otras sustancias) a la sangre y la linfa, que las llevan por todo el cuerpo.

Los enterocitos requieren cantidades enormes de energía para mantener el transporte activo y la síntesis de lipoproteínas. Aunque se utiliza algo de glucosa, la mayoría de la energía la aporta la glutamina. Durante el proceso digestivo, los enterocitos obtienen la glutamina a partir de la proteína degradada del alimento. En condiciones de ayuno, se requiere glutamina de la sangre arterial. Los enterocitos también utilizan algo de glutamina para formar Δ^1-pirrolina-5-carboxilato, que finalmente se convierte en prolina. Otros productos del metabolismo de la glutamina son el lactato, el citrato, la ornitina y la citrulina. El hígado recibe sangre que contiene nutrientes del alimento más estos productos del metabolismo de la glutamina. Utiliza el lactato y la alanina para sintetizar glucosa para exportarla y glucógeno para almacenar. La glucosa de la sangre se suministra preferentemente a los tejidos dependientes de glucosa (p. ej., cerebro, eritrocitos y médula suprarrenal).

Hígado

El hígado realiza una diversidad asombrosa de actividades metabólicas. Además de sus funciones clave en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y los

aminoácidos, el hígado controla y regula la composición química de la sangre y sintetiza varias proteínas plasmáticas. El hígado distribuye varias clases de nutrientes a otras partes del cuerpo. Debido a su flexibilidad metabólica, el hígado reduce las fluctuaciones de la disponibilidad de los nutrientes que producen las drásticas variaciones alimentarias y la alimentación y el ayuno intermitentes. Por ejemplo, un cambio repentino de una alimentación con hidratos de carbono abundantes a otra con abundantes proteínas incrementa (en cuestión de horas) la síntesis de enzimas que se requieren para el metabolismo de los aminoácidos. Finalmente, el hígado desempeña una función protectora de importancia crucial en el procesado de las moléculas ajenas.

Músculo

El músculo esquelético está especializado en la realización de un trabajo mecánico intermitente. Como se ha descrito anteriormente, las fuentes de energía que proporcionan ATP para la contracción muscular dependen en gran parte de la actividad muscular y del estado físico de la persona. Durante el ayuno y la inanición prolongada, parte de la proteína del músculo esquelético se degrada para proporcionar aminoácidos (p. ej., alanina) al hígado para la gluconeogénesis.

En contraste con el músculo esquelético, el músculo cardíaco debe contraerse continuamente para mantener el flujo sanguíneo por todo el cuerpo. Para mantener su continua operación, el músculo cardíaco utiliza glucosa en el estado de alimentación y ácidos grasos en el estado de ayuno. Por lo tanto, no es sorprendente que el músculo cardíaco esté lleno de mitocondrias. Puede utilizar también otras fuentes de energía, como la glucosa, los cuerpos cetónicos, el piruvato y el lactato. Éste sólo se produce en pequeñas cantidades en el músculo cardíaco debido a que la isoenzima de lactato deshidrogenasa de este tejido se inhibe por las concentraciones elevadas de su sustrato, el piruvato. La producción limitada de lactato significa que la glucólisis sola no puede mantenerse en el músculo cardíaco.

Tejido adiposo

La función del tejido adiposo es principalmente el almacenamiento de energía en forma de triacilgliceroles (pág. 336). Dependiendo de las condiciones fisiológicas, los adipocitos almacenan la grasa procedente del alimento y del metabolismo del hígado o degradan la grasa almacenada para aportar ácidos grasos y glicerol a la circulación. Recuerde que estas actividades metabólicas están reguladas por varias hormonas (esto es, insulina, glucagón y adrenalina).

Cerebro

El cerebro dirige en última instancia la mayoría de los procesos metabólicos corporales. La información sensorial procedente de numerosas fuentes se integra en varias áreas del cerebro. Estas áreas dirigen las actividades de las motoneuronas que inervan los músculos y las glándulas. El hipotálamo y la hipófisis controlan bien directamente o indirectamente la mayor parte de la actividad hormonal del cuerpo (Sección 16.4).

Como el corazón, el cerebro no proporciona energía a otros órganos o tejidos. En condiciones normales, el cerebro utiliza glucosa como único combustible. Debido a que almacena poco glucógeno, el cerebro es muy dependiente de un aporte continuo de glucosa en la sangre. Durante la inanición prolongada, el cerebro puede adaptarse y utilizar cuerpos cetónicos como fuente de energía.

Riñón

El riñón tiene varias funciones importantes que contribuyen significativamente a mantener un ambiente interno estable. Éstas son:

1. filtración del plasma sanguíneo, que da lugar a la eliminación de productos hidrosolubles de desecho (p. ej., urea y determinados compuestos ajenos),
2. reabsorción de electrólitos, azúcares y aminoácidos del filtrado,

3. regulación del pH sanguíneo, y
4. regulación del contenido de agua del cuerpo.

Considerando las funciones del riñón, no es sorprendente que la mayoría de la energía que se genera en este órgano se consuma en los procesos de transporte. La energía la proporcionan en gran medida los ácidos grasos y la glucosa. En condiciones normales, las pequeñas cantidades de glucosa que se forman por gluconeogénesis sólo se utilizan en determinadas células del riñón. La gluconeogénesis aumenta durante la inanición y la acidosis. El riñón utiliza la glutamina y el glutamato (a través de la glutaminasa y de la glutamato deshidrogenasa, respectivamente) para generar amoníaco, que se utiliza en la regulación del pH. (Recuerde que el NH_3 se combina de forma reversible con el H^+ para formar NH_4^+.) El esqueleto carbonado de la glutamina y del glutamato puede utilizarse posteriormente por el riñón como fuente de energía.

CONCEPTOS CLAVE 16.2

Cada órgano de los mamíferos contribuye a la función global del cuerpo

PREGUNTA 16.2

Describa dos funciones relacionadas con el metabolismo de los nutrientes para cada uno de los siguientes órganos:
a. intestino
b. hígado
c. músculo
d. tejido adiposo
e. riñón
f. cerebro

16.3. CICLO ALIMENTACIÓN-AYUNO

A pesar de sus requerimientos permanentes de energía y de moléculas biosintéticas precursoras, los mamíferos sólo consumen alimentos intermitentemente. Esto es posible debido a mecanismos elaborados de almacenamiento y movilización de moléculas con abundante energía procedentes del alimento (Fig. 16-3). Las variaciones del estado de varias rutas bioquímicas durante las transiciones entre la alimentación y el ayuno ilustra la integración metabólica y la influencia reguladora profunda de las hormonas. Las concentraciones de sustratos son también un factor importante en el metabolismo. Al considerar el ciclo alimentación-ayuno suelen utilizarse los términos *posprandial y postabsorción*. En el estado **posprandial**, que se produce directamente tras digerirse y absorberse una comida, las concentraciones en sangre de nutrientes se elevan por encima de las de la fase de ayuno. Durante el estado de **postabsorción**, por ejemplo tras el ayuno nocturno, las concentraciones en sangre de nutrientes son bajas.

Fase de alimentación

Al comenzar la fase de alimentación, el alimento se impulsa a lo largo del tubo digestivo mediante contracciones musculares. Al moverse a través de los órganos, el alimento se degrada en partículas más pequeñas y se expone a las enzimas. En última instancia, los productos de la digestión (que constan en gran medida de azúcares, ácidos grasos, glicerol y aminoácidos) se absorben por el intestino delgado y se transportan en la sangre y la linfa. Esta fase está regulada por interacciones entre las células productoras de enzimas de los órganos digestivos, el sistema nervioso, y varias hormonas. El sistema nervioso es responsable de las ondas de contracciones de la musculatura lisa que impulsan el alimento a lo largo del tubo digestivo, así como de regular las secreciones de varias estructuras digestivas (p. ej., glándulas salivales y gástricas). Las hormonas como la gastrina, la secretina y la colecistoquinina contribuyen también al proceso digestivo (Véase la Tabla 16.1 en la Sección 16.4). Lo hacen estimulando la secreción de enzimas o de ayudas digestivas como el bicarbonato y la bilis.

En la Figura 16-4 se expone el estado posprandial inicial. Como se ha descrito, los azúcares y los aminoácidos se absorben y transportan por la sangre portal al hígado. La sangre portal contiene también una concentración elevada de lactato, que

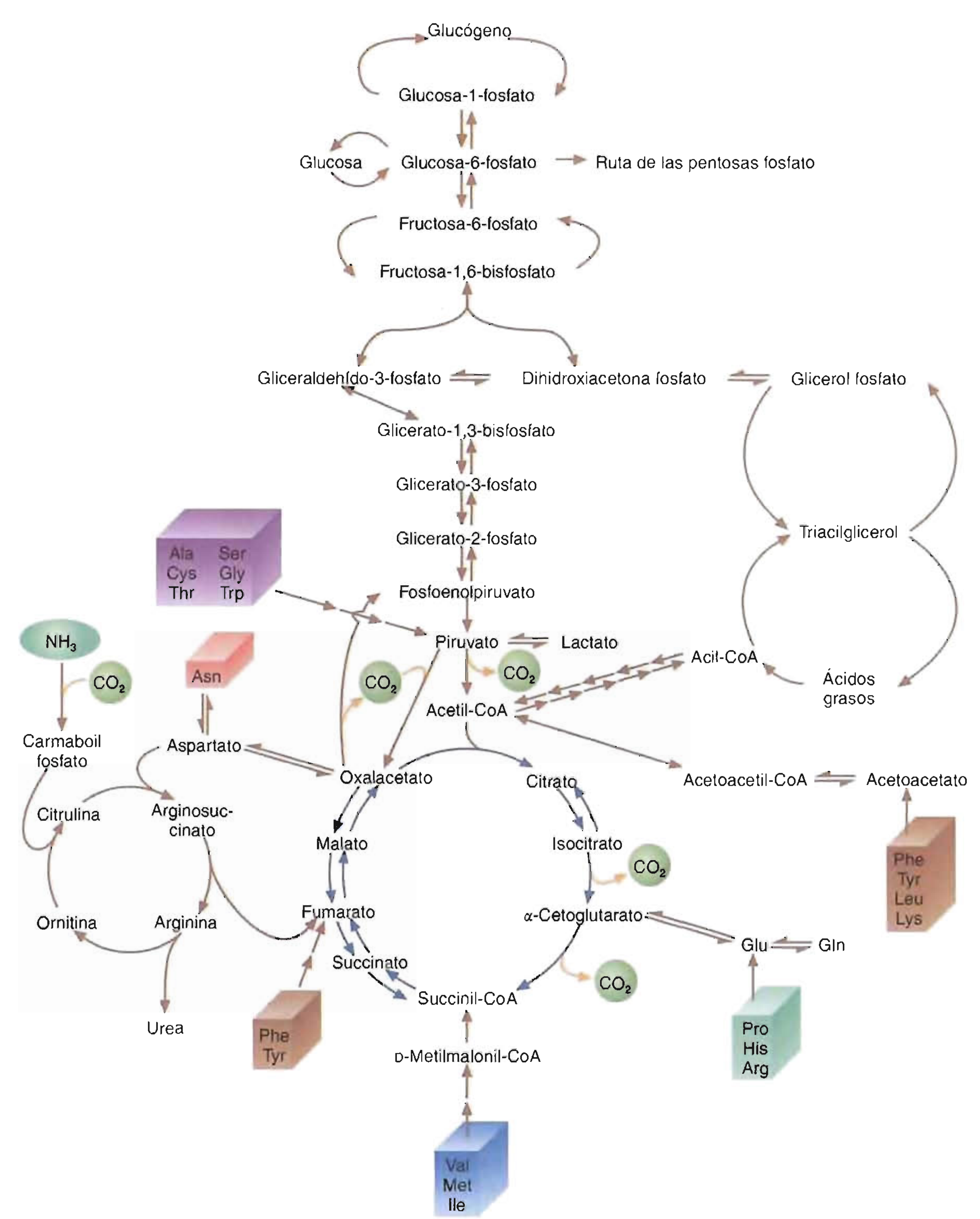


FIGURA 16-3

Metabolismo de los nutrientes en los mamíferos.

A pesar de la variabilidad de la alimentación de los mamíferos, normalmente estos organismos proporcionan a sus células los nutrientes adecuados. Los responsables de este fenómeno son los mecanismos de control que regulan las rutas bioquímicas.

es un producto del metabolismo del enterocito. La mayoría de las moléculas lipídicas se transportan en la linfa desde el intestino delgado en forma de quilomicrones. Éstos pasan al torrente sanguíneo, que los transporta a tejidos como el músculo y el tejido adiposo. Tras eliminarse de los quilomicrones, la mayoría de las moléculas de

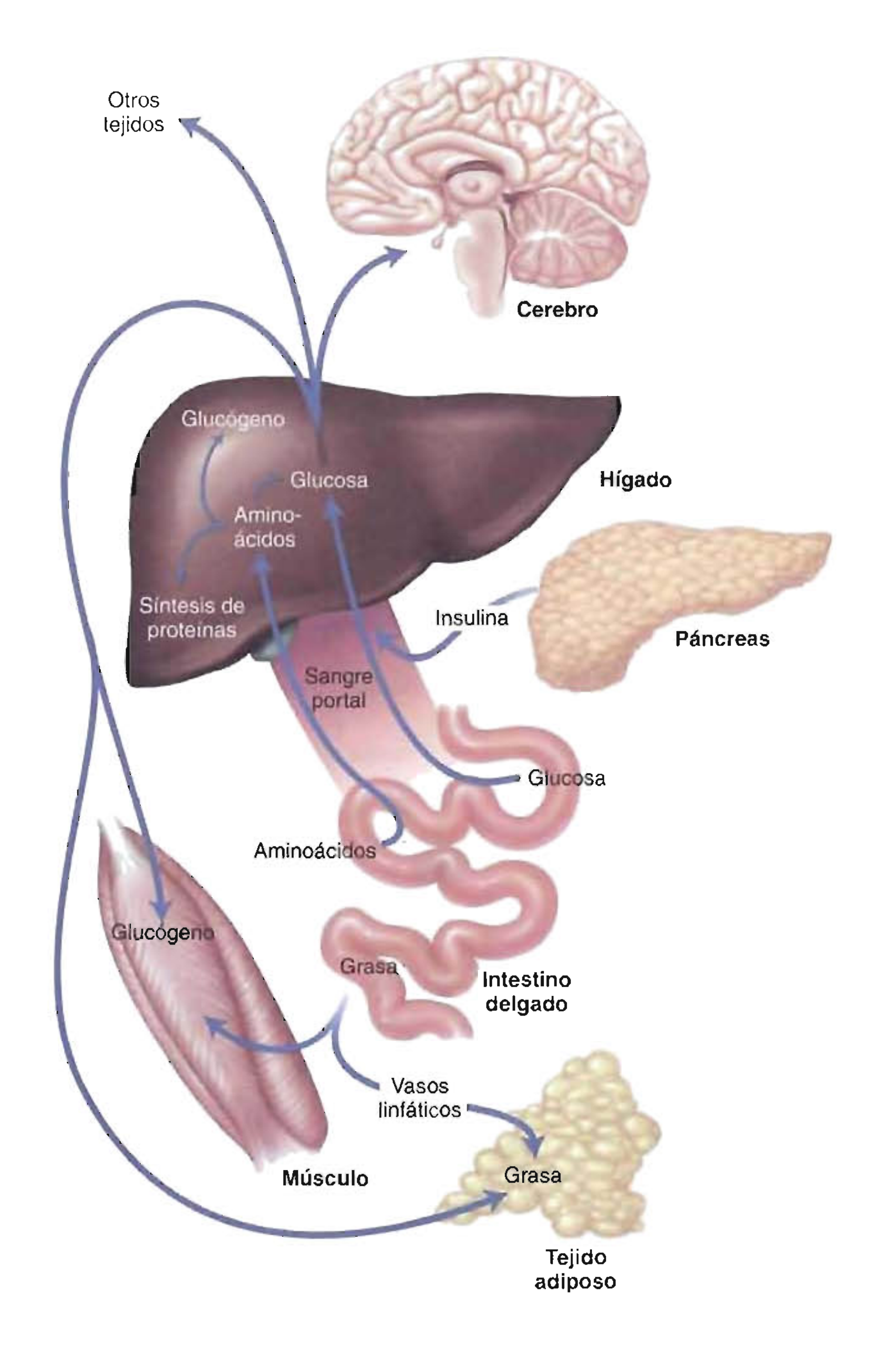


FIGURA 16-4

Estado posprandial inicial.

Los sustratos primarios de la síntesis de glucógeno en el hígado son los aminoácidos y el lactato (no se muestran) procedentes de la sangre portal. Obsérvese que el uso primario de la glucosa en las células grasas es como precursora del glicerol. Las células grasas no realizan una síntesis *de novo* significativa de ácidos grasos.

glicerol, estas estructuras, a las que ahora se denomina *remanentes de quilomicrones*, son captadas por el hígado. A continuación se degradan o se vuelven a utilizar los fosfolípidos, las proteínas, el colesterol, y las pocas moléculas que quedan de triacilgliceroles. Por ejemplo, el colesterol se utiliza para sintetizar ácidos biliares y los ácidos grasos se utilizan para sintetizar fosfolípidos. Éstos, así como otros lípidos y moléculas proteicas recién sintetizados, se incorporan a las lipoproteínas para su exportación a otros tejidos.

Al ir la glucosa a través de la sangre desde el intestino delgado al hígado, se estimulan las células β del páncreas para liberar insulina. (Las concentraciones sanguíneas elevadas de glucosa e insulina inhiben la secreción de glucagón por las células pancreáticas α. En la Figura 16-5 se presentan los efectos opuestos de la insulina y el glucagón sobre el metabolismo de la glucosa y las grasas.) La liberación de insulina desencadena diversos procesos que garantizan el almacenamiento de nutrientes. Entre ellos, la captación de glucosa por el músculo y el tejido adiposo, la glucogénesis en el hígado y el músculo, la síntesis de grasas en el hígado, el almacenamiento de grasa en los adipocitos, y la gluconeogénesis (utilizando el exceso de aminoácidos y

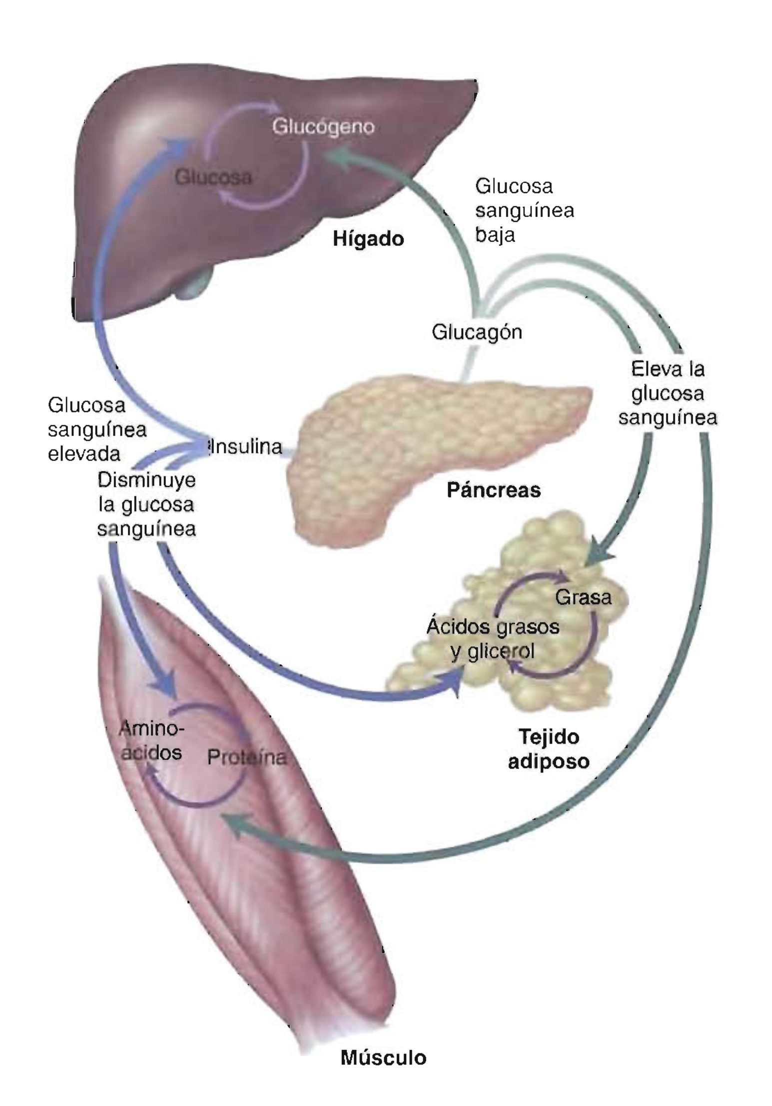


FIGURA 16-5

Efectos opuestos de la insulina y el glucagón sobre las concentraciones sanguíneas de glucosa.

En general, la insulina estimula los procesos anabólicos (p. ej., síntesis de grasas, glucogénesis y síntesis de proteínas). El glucagón aumenta las concentraciones sanguíneas de glucosa estimulando la glucogenólisis en el hígado y la degradación de las proteínas en el músculo. También estimula la lipólisis.

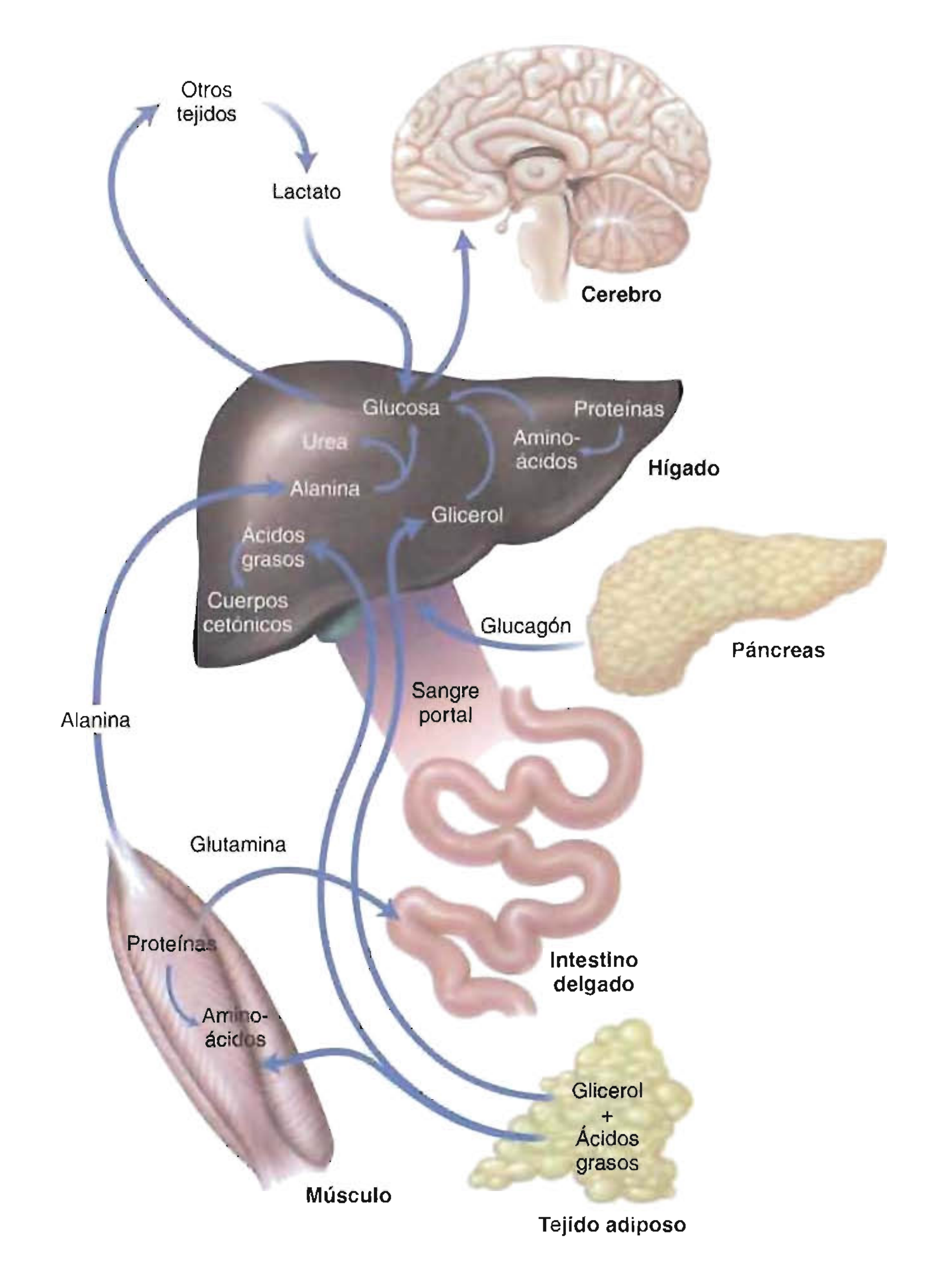
lactato). Recuerde que en el hígado, la mayoría del glucógeno y los ácidos grasos se sintetizan a partir de moléculas de tres carbonos como el lactato, y no directamente a partir de la glucosa sanguínea. Además, la insulina también afecta el metabolismo de los aminoácidos. Por ejemplo, la insulina estimula el transporte de los aminoácidos al interior de las células (especialmente las células musculares y hepáticas). En general, la insulina estimula la síntesis de proteínas en la mayoría de los tejidos.

Aunque los efectos de la insulina sobre el metabolismo posprandial son profundos, otros factores (p. ej., aporte de sustratos y efectores alostéricos) afectan también a la velocidad y al grado en que se producen estos procesos. Por ejemplo, las concentraciones en sangre elevadas de ácidos grasos estimulan la lipogénesis en el tejido adiposo. La regulación por varios efectores alostéricos aseguran aún más que las rutas que compiten no se produzcan de forma simultánea; por ejemplo, en muchas clases celulares la síntesis de ácidos grasos se estimula por citrato (un activador de la acetil-CoA carboxilasa), mientras que la oxidación de los ácidos grasos está inhibida por la malonil-CoA (un inhibidor de la actividad carnitina aciltransferasa I). En la Sección 12.1 se describe el control del metabolismo de los ácidos grasos.

Fase de ayuno

El estado de postabsorción inicial (Fig. 16-6) del ciclo alimentación-ayuno comienza al disminuir el flujo de nutrientes desde el intestino. Al volver a los valores normales las concentraciones de glucosa e insulina, se libera glucagón. Éste actúa para evitar la hipoglucemia estimulando en el hígado la glucogenólisis y la gluco-

FIGURA 16-6
Estado de postabsorción inicial.



neogénesis. El descenso de la insulina reduce el almacenamiento de la energía en varios tejidos y conduce a un aumento de la lipólisis y de la liberación por el músculo de aminoácidos como la alanina y la glutamina. (Recuerde que varios tejidos utilizan los ácidos grasos con preferencia a la glucosa. El glicerol y la alanina son sustratos de la gluconeogénesis, y la glutamina es una fuente de energía para los enterocitos.)

Si se prolonga el ayuno (p. ej., durante la noche), varias estrategias metabólicas mantienen las concentraciones sanguíneas de glucosa. La noradrenalina estimula el aumento de la movilización de los ácidos grasos por el tejido adiposo durante el estado de postabsorción. Estos ácidos grasos representan para el músculo una alternativa a la glucosa. (El consumo reducido de glucosa por el músculo esquelético la ahorra para su utilización por el cerebro. Recuerde que la glucosa normalmente es el único combustible del cerebro.) Además, la acción del glucagón incrementa la gluconeogénesis, utilizando los aminoácidos procedentes del músculo. (Durante el ayuno, las concentraciones de insulina disminuyen significativamente.)

En situaciones de ayuno muy prolongado (inanición), el organismo realiza cambios metabólicos para garantizar que se dispone de cantidades adecuadas de glucosa en sangre para mantener la producción de energía en el cerebro y otras células que

CONCEPTOS CLAVE 16.3

Durante la fase de alimentación, el alimento se consume, se digiere y se absorbe. Los nutrientes absorbidos se transportan a los órganos, donde se utilizan o se almacenan. Durante el ayuno, diversas estrategias metabólicas mantienen las concentraciones sanguíneas de glucosa.

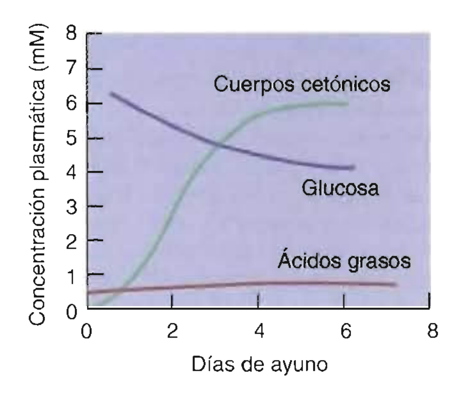


FIGURA 16-7

Concentración plasmática de ácidos grasos, glucosa y cuerpos cetónicos durante los primeros días de ayuno.

Las concentraciones de los ácidos grasos y las cetonas aumentan. Por el contrario, las concentraciones de glucosa disminuyen.

requieren glucosa. Además, se movilizan los ácidos grasos del tejido adiposo y los cuerpos cetónicos del hígado para mantener a los otros tejidos. Debido a que el glucógeno se agota tras varias horas de ayuno, la gluconeogénesis desempeña un papel esencial en la provisión de suficiente glucosa. Durante el comienzo de la inanición, se utilizan para este fin grandes cantidades de aminoácidos del músculo. Sin embargo, tras varias semanas, la degradación de la proteína muscular desciende significativamente debido a que el cerebro utiliza los cuerpos cetónicos como fuente de energía. En la Figura 16-7 se presentan las concentraciones plasmáticas de glucosa, ácidos grasos y cuerpos cetónicos al avanzar la inanición durante varios días.

Explique los cambios metabólicos que se producen durante la inanición. ¿Cuál parece ser la principal finalidad de la degradación preferente del tejido muscular durante la inanición? **PREGUNTA 16.3**

Explique los cambios del metabolismo hepático que tienen lugar cuando caen las concentraciones sanguíneas de glucosa tras digerirse una comida. **PREGUNTA 16.4**

16.4. COMUNICACIÓN INTERCELULAR

Las hormonas se sintetizan y segregan por células especializadas y ejercen efectos bioquímicos sobre células diana. Cuando estas células diana se encuentran lejos de las células que segregan las hormonas, éstas se denominan hormonas **endocrinas**. (Las hormonas paracrinas ejercen sus efectos sobre las células cercanas.) Algunas hormonas ejercen efectos muy específicos sobre una clase de célula diana, mientras que otras hormonas actúan sobre diversas células diana. Por ejemplo, la hormona estimulante del tiroides (TSH) estimula la secreción de T_3 (triyodotironina) y T_4 (tiroxina) por las células foliculares de la glándula tiroides (Fig. 16-8). Por el contra-

Triyodotironina (T_3)

Tiroxina (T_4)

FIGURA 16-8

Estructura de las hormonas tiroideas, T_3 y T_4.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 16.1. Ejercicio y metabolismo de los nutrientes

El ejercicio físico regular tiene un efecto profundo sobre la salud. Entre los beneficios se encuentran un amplio espectro de adaptaciones fisiológicas que aumentan la adecuación cardiovascular, disminuyen la incidencia y/o gravedad de las enfermedades crónicas, mejoran el talante y lentifican de forma eficaz el proceso de envejecimiento. El entrenamiento de fondo, una forma intensa de ejercicio en la que se contraen rápidamente los grandes músculos esqueléticos, hace con el tiempo que el cuerpo trabaje más eficazmente. En la actualidad se conocen muchos de los detalles de los mecanismos por los que el entrenamiento de fondo consigue estos efectos. La siguiente descripción de la base molecular del efecto del entrenamiento comienza con una visión general del metabolismo de los nutrientes en el músculo en ejercicio. Tras una descripción de las características prácticas del entrenamiento de fondo, se consideran los cambios metabólicos que induce el entrenamiento de fondo.

Fuentes de energía para el músculo en ejercicio

Existen dos estrategias metabólicas para suministrar la energía que requieren los músculos que se contraen: metabolismo anaerobio y metabolismo aerobio. El término *ejercicio anaerobio* describe estallidos intensos cortos de actividad física. La glucólisis genera el ATP que se requiere para llevar a cabo la contracción muscular. A estos niveles tan elevados de metabolismo, los músculos utilizan el oxígeno de forma más rápida de la que puede suministrar el sistema cardiovascular. Tan pronto como se agota el suministro de oxígeno, la concentración de lactato comienza a elevarse. La contracción muscular sólo puede continuar hasta que la concentración muscular de ácido láctico llegue a un nivel que produzca fatiga muscular. (Cuando la concentración de ácido láctico alcanza un valor umbral, las células musculares no responden a la estimulación nerviosa.) Cuando la contracción muscular se produce a un ritmo que permite el suministro de una cantidad adecuada de oxígeno, se dice que el ejercicio es *aerobio*. Cuando el ejercicio es aerobio, la actividad puede mantenerse durante un tiempo suficiente para inducir cambios sustanciales del metabolismo. Entre éstos se encuentran un aumento del **metabolismo basal** (MB) y de la resistencia a la fatiga. El MB es una medida de la energía que se requiere para mantener los procesos metabólicos vitales. El MB se determina cuando la persona se encuentra en reposo tras ayunar durante la noche.

Cuando se dispone de suficiente oxígeno, el músculo utiliza dos combustibles primarios: glucosa y ácidos grasos. Durante el reposo o el ejercicio de baja intensidad, la energía la proporcionan cantidades pequeñas de glucosa y ácidos grasos. Se requiere una pequeña cantidad de glucosa en parte debido a que se convierte en oxalacetato, que se necesita en el ciclo del ácido cítrico (Fig. 16-3). Al intensificarse la actividad física, aumenta la liberación de ácidos grasos de los depósitos de grasas del tejido adiposo. (Este proceso se produce por medio del sistema nervioso simpático, que estimula la secreción de adrenalina y noradrenalina por las glándulas suprarrenales. Recuerde que estas hormonas activan la lipasa sensible a las hormonas.) Finalmente, el glucógeno muscular se agota y se utiliza la glucosa que procede del glucógeno hepático. Si la actividad física intensa dura mucho, las reservas de glucógeno del cuerpo se agotan casi en su totalidad. En este momento, las células musculares dependen de la oxidación de los ácidos grasos para proporcionar la energía que se requiere para la contracción muscular. Sin embargo, debido a que la glucosa es la responsable del mantenimiento de un suministro grande de intermediarios del ciclo del ácido cítrico, la capacidad del músculo para generar energía cae hasta un 60 % de su nivel previo. En el entrenamiento de fondo, el ejercicio se realiza a un nivel submáximo, es decir, de forma que se disponga de glucosa para complementar la oxidación de los ácidos grasos. Tras una descripción de las características prácticas del entrenamiento de fondo, se consideran los cambios metabólicos que induce el entrenamiento de fondo.

Entrenamiento de fondo

El entrenamiento de fondo incorpora las siguientes características:

1. El ejercicio se realiza de forma regular, por ejemplo, todos los días o en días alternos.
2. Debe utilizarse una gran masa muscular para realizar el ejercicio. Son elecciones excelentes los ejercicios como la carrera, el caminar, el ciclismo y el esquí de fondo, ya que se utiliza una gran cantidad de masa muscular. Cuanto mayor cantidad de músculo se ejercite, mayor es la cantidad de grasa que se oxida.

rio, la T_3 (la forma activa de la hormona) y la T_4 estimulan diversas reacciones celulares en numerosas clases de células (p. ej., estimulan la glucogenólisis en las células del hígado y la absorción de glucosa en el intestino delgado).

El control de las respuestas fisiológicas suele emplear varias hormonas. En algunos sistemas, dos o más hormonas actúan de forma opuesta unas de otras (p. ej., la insulina y el glucagón en la regulación de la glucosa sanguínea). En otros sistemas de control, varias hormonas actúan en jerarquías de información. La Sección 16.4 comienza con una descripción del ejemplo más estudiado de una jerarquía de esta clase, que se denomina mecanismo de cascada hormonal. Sigue a continuación una consideración de los factores de crecimiento, proteínas especializadas que estimulan la división celular en las células susceptibles.

En la actualidad, existen técnicas sensibles para detectar y medir las hormonas. En Métodos Bioquímicos 16.1 se describen las más utilizadas que son el radioinmunoanálisis y el análisis inmunosorbente con la enzima ligada (ELISA).

Sistema de cascada hormonal

El repertorio de moléculas que actualmente se consideran hormonas se ha hecho asombrosamente grande. El Cuadro 16-1 contiene una pequeña selección de las hormonas mejor conocidas de los mamíferos.

3. El ejercicio debe ser continuo. Para inducir un «efecto del entrenamiento» (es decir, un cambio del metabolismo muscular), la frecuencia cardíaca debe estar por encima de un umbral específico durante un tiempo mínimo. Este valor de umbral está determinado en gran medida por la edad de la persona. Por ejemplo, la frecuencia cardíaca mínima de una persona de 20 años que se entrena es de aproximadamente 130 latidos por minuto, mientras que para una persona con más de 60 son suficientes 104. Estos valores son el 65% de la frecuencia cardíaca máxima ajustada a la edad. (La frecuencia cardíaca máxima se calcula restando la edad de una persona de 220.)
4. El ejercicio debe realizarse durante un tiempo mínimo. El tiempo requerido depende del tipo de ejercicio que se elija. Por ejemplo, se requieren entre 30 y 45 minutos (dependiendo de la velocidad) para un programa de caminar, mientras que son suficientes 20 minutos de carrera para inducir un efecto de entrenamiento.
5. El ejercicio debe ser aerobio. En otras palabras, no debe ser tan intenso que la respiración sea difícil. Un ejercicio aerobio puede también conseguirse controlando la respiración o la frecuencia cardíaca. La respiración no debe ser forzada. El ejercicio no debe hacer que la frecuencia cardíaca supere el 80% de la frecuencia cardíaca máxima ajustada a la edad. Para una persona de 20 años, la frecuencia cardíaca máxima durante el ejercicio no debe superar 160 (es decir, el 80% de 200, la frecuencia cardíaca máxima.)

Efecto del entrenamiento

El entrenamiento de fondo del músculo esquelético induce varias adaptaciones metabólicas que aumentan la capacidad del cuerpo para quemar grasas. (Se desconocen los mecanismos precisos por medio de los cuales se afectan estos cambios.) Estas adaptaciones también sirven para conservar el glucógeno muscular, una consideración importante si se deben degradar simultáneamente los ácidos grasos y la glucosa. Las adaptaciones más evidentes se producen en el músculo esquelético.

1. Aumenta el número de mitocondrias por fibra muscular. Este aumento es responsable en parte de que las células musculares respondan mejor a los reguladores metabólicos. Por ejemplo, el glucógeno muscular se conserva en parte debido a la inhibición de la PFK-1 por varios reguladores metabólicos producidos durante la oxidación de los ácidos grasos, como el citrato. El mayor número de mitocondrias aumenta la eficacia con la que estos reguladores pueden inhibir las enzimas glucolíticas.
2. Los ácidos grasos se degradan de forma más eficaz debido al aumento de la síntesis de moléculas que facilitan el transporte y la oxidación de los ácidos grasos. Aumenta la concentración de las enzimas del ciclo del ácido cítrico y de la β-oxidación, así como los componentes de la CTE. Además, aumenta la capacidad de la célula muscular para eliminar los ácidos grasos de la sangre y transportarlos a las mitocondrias. Por ejemplo, se ha observado que aumenta la síntesis de proteínas transportadoras de ácidos grasos y de proteínas de unión de ácidos grasos, así como de carnitina y carnitina aciltransferasa.
3. Aumenta la vascularización del tejido muscular. Al aumentar el número de capilares, el tiempo de tránsito de la sangre a través del músculo se incrementa (es decir, hay un aumento de la resistencia del flujo debido a una mayor superficie para el intercambio de los nutrientes). Es más eficaz el intercambio de los nutrientes y de los productos de desecho entre la sangre y las fibras musculares.

El entrenamiento de fondo posee un efecto notorio sobre el metabolismo de las grasas. En las personas sedentarias, especialmente aquellas con dietas con restricción de calorías, los adipocitos son resistentes a la estimulación por el sistema nervioso simpático que acompaña al ejercicio físico. Por razones que no se comprenden bien, el entrenamiento de fondo produce un aumento de la sensibilidad de los adipocitos a estas hormonas. Éste es un punto importante, ya que la cantidad de ácidos grasos que se transportan al interior de las células musculares y que se utiliza para producir la contracción muscular está directamente relacionada con su concentración en sangre. Los músculos entrenados pueden generar más energía oxidando los cuerpos cetónicos.

En los mamíferos, la mayoría de las actividades metabólicas están controladas en mayor o menor grado por las hormonas. La síntesis y la secreción de muchas hormonas está regulada por un mecanismo complejo de cascada y, en última instancia, por el sistema nervioso central. En este sistema, que se esquematiza en la Figura 16-9, el hipotálamo, un área del encéfalo que une los sistemas nervioso y endocrino, recibe las señales sensitivas. (Además de regular la producción de hormonas, las células nerviosas del hipotálamo controlan y/o regulan las funciones corporales vitales, como la temperatura corporal, la tensión sanguínea, el equilibrio hídrico y el peso corporal. El hipotálamo también está asociado con determinados comportamientos, por ejemplo, la ira, el impulso sexual y los sentimientos de dolor y placer.) Una vez estimulado de forma adecuada, el hipotálamo induce le secreción de varias hormonas que produce el lóbulo anterior de la hipófisis. (La hipófisis, que está unida al hipotálamo por el tallo hipofisario, está formada por dos partes diferentes: el lóbulo anterior o adenohipófisis y el lóbulo posterior o neurohipófisis.) El hipotálamo realiza esta función sintetizando un conjunto de hormonas específicas liberadoras de péptidos. Las hormonas liberadoras pasan a un lecho capilar especializado que se denomina sistema portal hipotalamohipofisario, que las transporta directamente a la adenohipófisis. Cada hormona liberadora estimula la síntesis y secreción de una o varias clases de hormonas por unas células específicas. Por ejemplo, el tripéptido hormona liberadora de tirotropina (TRH) estimula la secreción de TSH y

CUADRO 16-1

Hormonas de mamíferos seleccionadas

Fuente	Hormona	Función
Hipotálamo	Hormona liberadora de gonadotropina* (GnRH)	Estimula la secreción de LH y FSH
	Hormona liberadora de corticotropina* (CRH)	Estimula la secreción de ACTH
	Hormona liberadora de la hormona del crecimiento* (GHRH)	Estimula la secreción de GH
	Somatostatina*	Inhibe la secreción de GH y TSH
	Hormona liberadora de tirotropina* (TRH)	Estimula la secreción de TSH y prolactina
Hipófisis	Hormona luteinizante* (LH)	Estimula el desarrollo celular y la síntesis de hormonas sexuales en los ovarios y los testículos
	Hormona estimulante de los folículos* (FSH)	Promueve la ovulación y la síntesis de estrógenos en los ovarios y el desarrollo de los espermatozoides en los testículos
	Corticotropina* (ACTH) (hormona adrenocorticotropa)	Estimula la síntesis de esteroides en la corteza suprarrenal
	Hormona del crecimiento* (GH)	Efectos anabólicos generales en muchos tejidos
	Tirotropina* (TSH) (hormona estimulante del tiroides)	Estimula la síntesis de hormonas tiroideas
	Prolactina*	Estimula la producción de leche en las glándulas mamarias y participa en la regulación del sistema reproductor en los machos
	Oxitocina*	Contracción del útero y eyección de la leche
	Vasopresina*	Presión sanguínea y equilibrio del agua
Gónadas	Estrógenos† (estradiol)	Maduración y función del sistema reproductor en las hembras
	Progestinas† (progesterona)	Implantación de los huevos fertilizados y mantenimiento de la gestación
	Andrógenos† (testosterona)	Maduración y función del sistema reproductor en los machos
Corteza suprarrenal	Glucocorticoides† (cortisol, corticosterona)	Efectos metabólicos diversos, así como inhibición de la respuesta inflamatoria
	Mineralcorticoides† (aldosterona)	Metabolismo mineral
Tiroides	Triyodotironina‡ (T_3)	Estimulación general de muchas reacciones celulares
	Tiroxina (T_4) (tras conversión a T_3)	
Tubo digestivo	Gastrina*	Estimula la secreción de ácido por el estómago y de enzimas pancreáticas
	Secretina*	Regula las secreciones exocrinas pancreáticas
	Colecistoquinina*	Estimula la secreción de enzimas digestivas y bilis
	Somatostatina*	Inhibe la secreción de gastrina y glucagón
Páncreas	Insulina*	Efectos anabólicos generales incluyendo la captación de glucosa y la lipogénesis
	Glucagón*	Glucogenólisis y lipólisis
	Somatostatina*	Inhibe la secreción de glucagón

* Péptido o polipéptido.
† Esteroide.
‡ Derivado de aminoácido.

prolactina. (La prolactina estimula la producción de leche en las madres recientes. Normalmente, la liberación de prolactina está impedida por otros factores hormonales y nerviosos.) Las hormonas de la hipófisis anterior se denominan trópicas («volver» o «cambiar») debido a que estimulan la síntesis y liberación de hormonas por otras glándulas endocrinas. Por ejemplo, la TSH estimula la liberación de las hormonas tiriodeas T_3 y T_4 por la glándula tiroides.

La anatomía y la función de la hipófisis posterior son diferentes de las de la hipófisis anterior. Las hormonas que segrega la neurohipófisis (esto es, los péptidos vasopresina y oxitocina; véase la Sección 5.2) se sintetizan realmente en tipos individuales de neuronas que tienen su origen en el hipotálamo. Tras su síntesis, ambas hormonas se guardan en gránulos secretores con otras proteínas denominadas neurofisinas. Los gránulos viajan por los axones hacia el lóbulo posterior y se segregan al

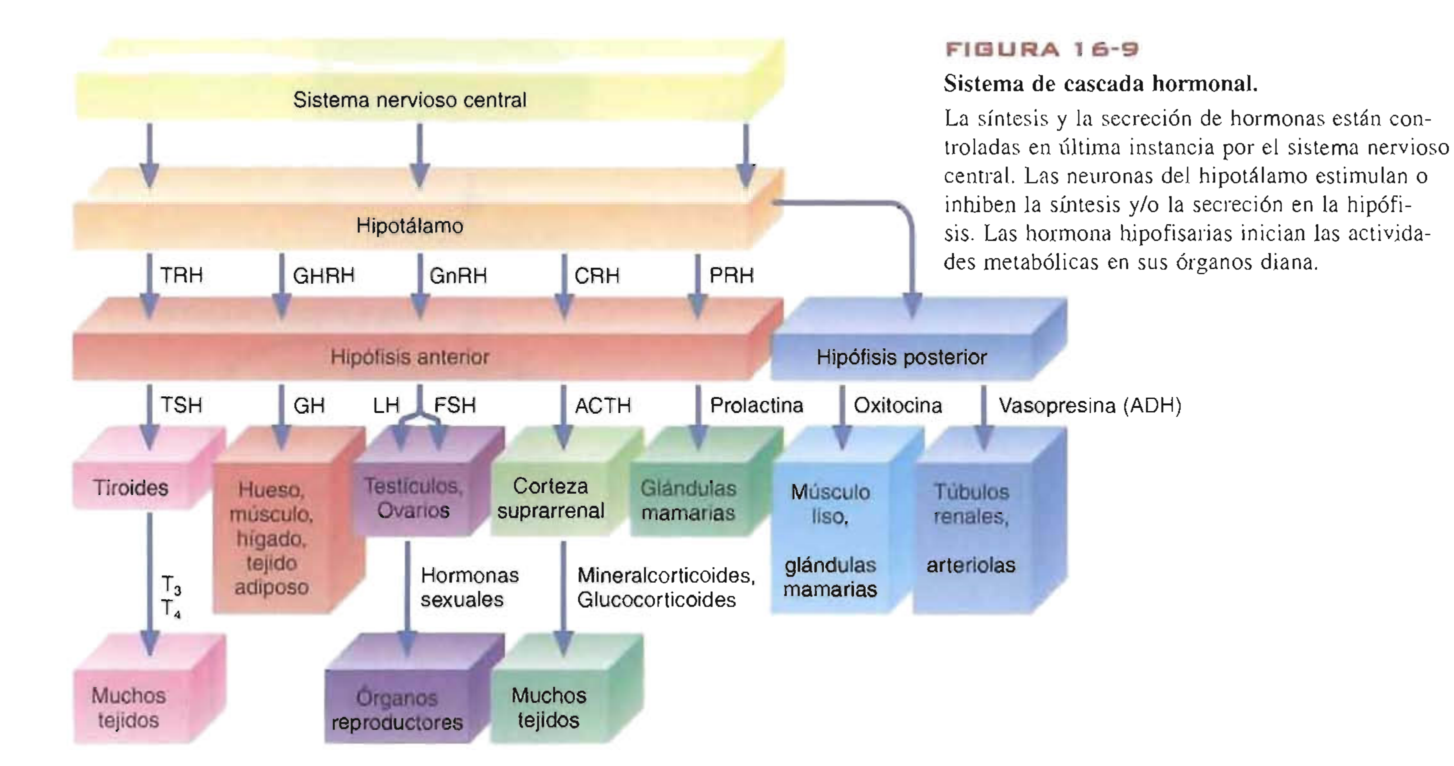


FIGURA 16-9

Sistema de cascada hormonal.

La síntesis y la secreción de hormonas están controladas en última instancia por el sistema nervioso central. Las neuronas del hipotálamo estimulan o inhiben la síntesis y/o la secreción en la hipófisis. Las hormona hipofisarias inician las actividades metabólicas en sus órganos diana.

torrente sanguíneo cuando un potencial de acción alcanza los terminales nerviosos e inician la exocitosis. La oxitocina se segrega como respuesta a los impulsos nerviosos que se inician por las contracciones del útero al final del embarazo y la succión cuando la madre da el pecho. La vasopresina (hormona antidiurética) se segrega como respuesta a señales nerviosas procedentes de células especializadas denominadas osmorreceptores, que son sensibles a las variaciones de la osmolalidad sanguínea.

Los animales emplean diversos mecanismos para impedir una síntesis y liberación hormonal excesivas. El más destacado de ellos es la retroinhibición. El hipotálamo y la hipófisis anterior están controladas por las células diana que regulan. Por ejemplo, la liberación de TSH por la hipófisis anterior se inhibe cuando las concentraciones sanguíneas de T_3 y T_4 se elevan (Fig. 16-10). Las hormonas tiroideas inhiben la respuesta a la TRH de las células que sintetizan TSH. Además, varias hormonas trópicas inhiben la síntesis de sus factores de liberación.

Las células diana poseen también mecanismos que las protegen frente a la sobreestimulación por las hormonas. Mediante un proceso que se denomina **desensibilización**, las células diana se ajustan a las variaciones de los niveles de estimulación disminuyendo el número de receptores de la superficie celular o inactivando esos receptores. La reducción de los receptores de la superficie celular en respuesta a la estimulación por moléculas hormonales específicas se denomina **regulación por disminución**. En la regulación por disminución, los receptores se internalizan mediante endocitosis. Dependiendo del tipo celular y de diversos factores metabólicos, los receptores pueden finalmente reciclarse a la superficie celular o degradarse. Si se degradan, deben sintetizarse proteínas para reemplazar a los receptores. Algunas enfermedades están producidas o asociadas con una insensibilidad de las células diana a las hormonas específicas. Por ejemplo, algunos casos de diabetes están asociados con una **resistencia a la insulina**, producida por un descenso de los receptores funcionales de insulina. (La diabetes se considera en el Recuadro de Interés Especial 16.3.)

CONCEPTOS CLAVE 16.4

Muchas de las hormonas del cuerpo de los mamíferos se controlan mediante un mecanismo complejo de cascada, y en última instancia se regulan por el sistema nervioso central.

PREGUNTA 16.5

La cortisona es uno de los diversos glucocorticoides suprarrenales sintéticos que se recetan para el tratamiento de los trastornos inflamatorios y alérgicos. Puede administrarse de forma oral. Por el contrario, la hormona insulina, que se utiliza en el tratamiento de la diabetes mellitus, sólo puede inyectarse. Explíquelo.

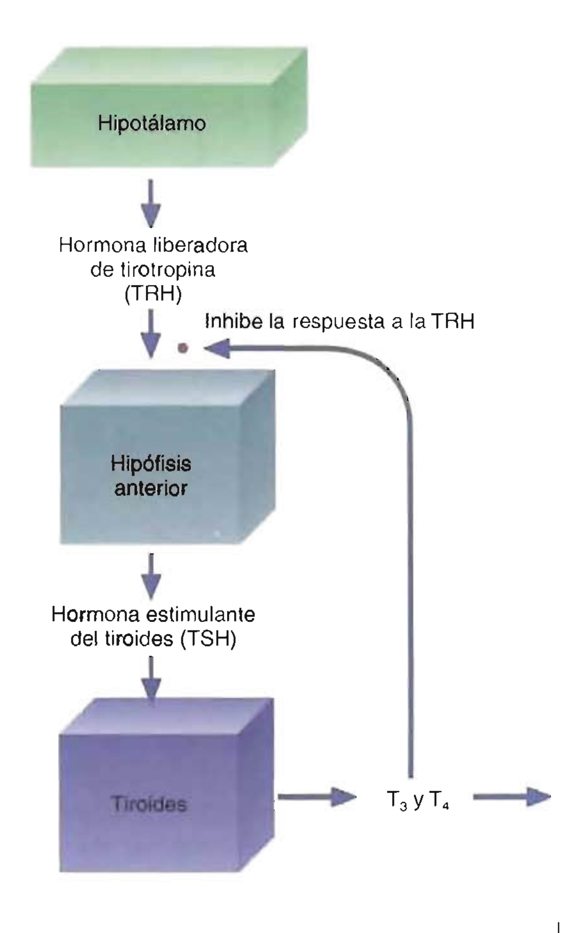


FIGURA 16-10

Retroinhibición.

La TSH estimula la secreción de tiroxina por el tiroides. A su vez, la TRH estimula la secreción de TSH. Al aumentar las concentraciones sanguíneas de tiroxina, la secreción de TRH se inhibe.

PREGUNTA 16.6

Cuando una molécula hormonal se une reversiblemente a su receptor en o dentro de una célula diana, lo hace mediante interacciones no covalentes. Describa los tipos de interacciones que con mayor probabilidad participan en este proceso de unión.

PREGUNTA 16.7

El timo es una glándula bilobulada que se encuentra por encima del corazón. Estimula la diferenciación de determinados linfocitos para formar las células T. (Recuerde que las células T confieren inmunidad celular.) Además, el timo segrega varias hormonas tímicas que estimulan la función de las células T tras dejar estas células el timo.

Las agresiones físicas y emocionales deprimen la inmunidad celular. Por ejemplo, el riesgo de padecer cáncer e infecciones graves aumenta con la duración de la agresión crónica. Aunque no se conoce con claridad el mecanismo por el que la agresión induce este cambio de función, se cree que las concentraciones sanguíneas elevadas de glucocorticoides (p. ej., el cortisol) desempeñan un papel importante. Cuando se elevan las concentraciones de glucocorticoides disminuye la secreción de la hormona tímica. Además, los ritmos circadianos alteran las concentraciones de hormona tímica y de glucocorticoides. (Las concentraciones de hormona tímica son mayores y las concentraciones de glucocorticoides menores por la noche que por el día.) Suponiendo que los glucocorticoides disminuyen la secreción de hormona tímica, esquematice (en términos generales) cómo afectan las situaciones agresivas y los ciclos luz/oscuridad la secreción de hormona tímica. ¿Qué otras hormonas participan en ambos procesos? (*Pista*: Revise la síntesis de melatonina en el Capítulo 14.)

Factores de crecimiento

La supervivencia de los organismos multicelulares requiere que estén controlados de forma rigurosa el crecimiento celular y la división celular (mitosis). No se han resuelto aún totalmente las condiciones que regulan estos procesos. Sin embargo, actualmente se cree que una diversidad de polipéptidos y proteínas semejantes a las

hormonas, que se denominan **factores de crecimiento** (o **citoquinas**), regulan el crecimiento, la diferenciación y la proliferación de muchas células. Con frecuencia se requieren las acciones de varios factores de crecimiento para estimular las respuestas celulares. Los factores de crecimiento se diferencian de las hormonas en que éstas se sintetizan por diversas clases celulares en lugar de por células glandulares especializadas. Entre los ejemplos de factores de crecimiento de los mamíferos se encuentran el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y las somatomedinas. Se consideran también citoquinas moléculas semejantes como las interleuquinas, que estimulan la proliferación y diferenciación celular dentro del sistema inmunitario. Se han caracterizado también varias moléculas supresoras del crecimiento. No se conocen bien los mecanismos por los que las citoquinas ejercen sus efectos. Los pocos aspectos de la acción de las citoquinas que se han identificado se asemejan a algunos de los que se observan en las hormonas (Sección 16.5). Aunque algunos de los factores de crecimiento se encuentran en la sangre circulante, la mayoría de ellos tienen actividad paracrina y/o autocrina.

El **factor de crecimiento epidérmico** (EGF) (64 kD), uno de los primeros factores celulares que se identificaron, es un **mitógeno** (estimulador de la división celular) para un gran número de células epiteliales, como las células que recubren la epidermis y el tubo digestivo. El EGF desencadena la división celular cuando se une a los receptores EGF de la membrana plasmática, que son tirosina quinasas transmembrana estructuralmente semejantes a los receptores de insulina (se describen en la pág. 558).

El **factor de crecimiento derivado de las plaquetas** (PDGF) (31 kD) se segrega por las plaquetas sanguíneas durante la reacción de coagulación. Actuando con el EGF, el PDGF estimula la mitosis en los fibroblastos y otras células cercanas durante la cicatrización de las heridas. El PDGF estimula también la síntesis de colágeno en los fibroblastos.

CONCEPTOS CLAVE 16.5

Los factores de crecimiento son un grupo de hormonas de tipo polipeptídico y proteínas que estimulan el crecimiento celular, la división celular y la diferenciación.

Las **somatomedinas** son un grupo de polipéptidos que intermedian en las acciones promotoras del crecimiento de la GH. Las somatomedinas, que se producen en el hígado y en otras células tisulares (p. ej., músculo, fibroblastos, hueso y riñón) cuando la GH se une a sus receptores de superficie, son las estimuladoras principales del crecimiento en los animales. Las somatomedinas se segregan por el hígado al torrente sanguíneo, en contraste con la acción paracrina que exhiben otras células productoras de somatomedinas. Además de estimular la división celular, las somatomedinas estimulan (aunque en menor grado) los mismos procesos metabólicos que la hormona insulina (p. ej., transporte de glucosa y síntesis de grasas). Por esta razón, las dos somatomedinas que se encuentran en el ser humano se han redenominado **factores de crecimiento insulinoide I y II** (IGF-I e IGF-II). Como otros factores de crecimiento polipeptídicos, las somatomedinas desencadenan procesos intracelulares al unirse a receptores celulares de superficie. No sorprende que los receptores de las somatomedinas sean también tirosina quinasas.

La **interleuquina-2** (IL-2) (13 kD) es un miembro de un grupo de citoquinas que regulan el sistema inmunitario, además de estimular el crecimiento y la diferenciación celular. La IL-2 se segrega por las células T tras ser activadas por la unión a células presentadoras de antígeno específicas. Estas células se estimulan también para que produzcan receptores de IL-2. La unión de la IL-2 a estos receptores estimula la división celular de forma que se producen numerosas células T idénticas. Este proceso, así como otros aspectos de la respuesta inmunitaria, continúa hasta que se elimina el antígeno del cuerpo.

Varias citoquinas son inhibidoras del crecimiento. Los **interferones** son un grupo de polipéptidos que producen diversas células como respuesta a varios estímulos, como antígenos, mitógenos, infecciones víricas y determinados tumores. Los interferones de tipo I protegen a las células de las infecciones víricas estimulando la fosforilación e inactivación de un factor proteico necesario para iniciar la síntesis de proteínas. Los interferones de tipo II, que producen los linfocitos T, inhiben el crecimiento de las células cancerosas además de tener varios efectos inmunorreguladores. Como implican sus nombres, los **factores de necrosis tumoral** (TNF) son tóxicos para las células tumorales. Tanto el TNF-α (que producen los leucocitos

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 16.2. Enfermedades hormonales

No es sorprendente que existan numerosas enfermedades hormonales ya que las hormonas influyen de una forma importante sobre la regulación de los procesos metabólicos. En general, estas enfermedades, se producen por una sobreproducción o una infraproducción de una hormona específica o por la insensibilidad de las células diana.

Sobreproducción hormonal

La sobreproducción de moléculas de hormona suele estar causada por un tumor. Varias clases de tumores hipofisarios producen enfermedades endocrinas. Por ejemplo, una de las causas más frecuente de la enfermedad de Cushing es una proliferación anómala de las células productoras de ACTH. La *enfermedad de Cushing* se caracteriza por obesidad, hipertensión y concentraciones elevadas de glucosa en sangre. Los pacientes con la enfermedad de Cushing presentan una apariencia característica: una «cara de luna» hinchada y una «joroba de búfalo» producida por los depósitos de grasa entre los hombros. Ocasionalmente, la enfermedad de Cushing está causada por tumores de la corteza suprarrenal.

Dependiendo de la edad del paciente, los tumores hipofisarios que se producen a partir de las células somatotropas (las células que sintetizan GH) producen gigantismo o acromegalia. El *gigantismo*, marcado por un crecimiento pronunciado de los huesos largos, está producido por una secreción excesiva de hormona del crecimiento (GH) durante la infancia. En la edad adulta, la producción excesiva de GH da lugar a *acromegalia*, en la que la proliferación del tejido conjuntivo y el engrosamiento de los huesos da lugar a unas características faciales toscas y exageradas y unas manos y pies más grandes.

No todas las enfermedades hipersecretoras están producidas por tumores. Por ejemplo, la *enfermedad de Graves*, la forma más habitual de hipertiroidismo, es una enfermedad autoinmunitaria. Por razones desconocidas, se producen autoanticuerpos que se unen a los receptores de TSH en la glándula tiroidea. (Estos anticuerpos se denominan *estimuladores tiroideos de larga duración*, o ETLD.) La producción excesiva resultante de hormonas tiroideas produce *tirotoxicosis*, que se caracteriza por *bocio* (agrandamiento de la glándula tiroides) y *exoftalmos* (el globo ocular sobresale de una forma anómala). Las personas afectadas son más sensibles a las catecolaminas. (Aparentemente, el número de receptores de catecolaminas en el corazón y en el sistema nervioso central aumenta.) Durante las situaciones de agresión (p. ej., operaciones quirúrgicas o infarto de miocardio) cuando se liberan grandes cantidades de catecolaminas, puede producirse una «tormenta tiroidea» potencialmente mortal. Las consecuencias de una tormenta tiroidea son agitación, delirio, coma e insuficiencia coronaria.

Infraproducción hormonal

La producción inadecuada de hormonas tiene diversas causas. Las más frecuentes son la destrucción autoinmunitaria de las células productoras de hormonas, los defectos genéticos y un aporte inadecuado de moléculas precursoras.

Como se ha descrito, en la enfermedad de Addison la función de la corteza suprarrenal es inadecuada. La causa más frecuente de la enfermedad de Addison es una destrucción autoinmunitaria de la glándula suprarrenal. (La causa principal de la insuficiencia suprarrenal antes de los años 1920 era la tuberculosis de la glándula suprarrenal.) La enfermedad de Addison también se produce como consecuencia de un tratamiento prolongado con glucocorticoides. (Recuerde que determinados glucocorticoides se utilizan como fármacos antiinflamatorios.)

El hipotiroidismo (deficiencia de hormona tiroidea) puede ser consecuencia de una enfermedad autoinmunitaria (*enfermedad de Hashimoto*) o de una síntesis deficiente de TSH o TRH (factor liberador de la hormona estimulante del tiroides). Debido a que la ingestión adecuada de yodo es un requisito previo para la síntesis de las hormonas tiroideas, la deficiencia de yodo también produce hipotiroidismo. En los niños, la deficiencia de hormonas tiroideas (que se denomina *cretinismo*) produce disminución del crecimiento y retraso mental. El hipotiroidismo grave en los adultos (*mixedema*) da lugar a síntomas como edema (acumulación anómala de líquidos) y bocio. El hipotiroidismo normalmente se trata con una terapia hormonal sustitutoria.

La deficiencia de hormona del crecimiento puede ser hereditaria o consecuencia de un tumor hipofisario o un traumatismo craneal. La deficiencia congénita de GH da lugar a una estatura corta (*enanismo*). Actualmente, se trata a los niños afectados con GH producida mediante técnicas de DNA recombinante. En el *enanismo de Laron*, la GH exógena no tiene efecto sobre las células del paciente debido a un mecanismo defectuoso de la respuesta a la GH.

La *diabetes insípida* se caracteriza por la eliminación de cantidades copiosas de una orina muy diluida. Está producida por una síntesis inadecuada de vasopresina o por una ausencia de respuesta del riñón a la vasopresina. Las causas más habituales de diabetes insípida son los tumores y los procedimientos quirúrgicos en los que se cortan los conductos nerviosos neurohipofisarios. En varias formas de enfermedad renal, la capacidad del órgano para responder a la vasopresina se encuentra comprometida.

fagocíticos activados por el antígeno) como el TNF-β (que producen las células T activadas) suprimen la división celular. También pueden actuar en la regulación de diversos procesos del desarrollo.

16.5 MECANISMOS DE ACCIÓN HORMONAL

Las hormonas inician sus acciones dentro de las células diana uniéndose a un receptor. Las hormonas hidrosolubles (p. ej., polipéptidos, proteínas y adrenalina) se unen a moléculas receptoras sobre la superficie externa de la membrana plasmática de las células diana. El proceso de unión, que es reversible, desencadena un mecanismo que inicia una cascada de fosforilación, bien directamente (p. ej., la insulina) o indirectamente, a través de moléculas segundos mensajeros (p. ej., el glucagón). Como resultado, las actividades de enzimas específicas y/o mecanismos de transporte de membrana se alteran. Entre los ejemplos de segundos mensajeros bien conocidos se encuentran el AMP cíclico (cAMP), el GMP cíclico (cGMP), los derivados del fosfatidilglicerol-4,5-bisfosfato, diacilglicerol (DAG) e inositol trisfosfato (IP_3), y los

iones calcio. En cambio, las hormonas liposolubles, como las hormonas esteroideas y tiroideas, penetran en las células diana, donde se unen a moléculas receptoras específicas. Cada complejo hormona-receptor se une a continuación a regiones específicas del DNA de la célula diana. Esta unión modifica la expresión génica y conduce a un cambio del perfil proteico de la célula.

En la Sección 16.5, se describe brevemente cada tipo de mecanismo hormonal y a continuación se presenta el receptor de la insulina, un componente celular de gran importancia.

Segundos mensajeros

Cuando una hormona se une a un receptor de la membrana plasmática, se genera una señal intracelular que se denomina segundo mensajero. Éste es el que realmente comunica el mensaje hormonal. Este proceso, que se denomina **transducción de señal**, amplifica también la señal original. En otras palabras, unas pocas moléculas de la hormona inician un mecanismo que conduce a la producción de algunas moléculas del segundo mensajero. A continuación se describen los segundos mensajeros siguientes: cAMP, cGMP, DAG, IP_3 y Ca^{2+}.

cAMP El cAMP se forma a partir del ATP por la adenilato ciclasa como respuesta a la interacción hormona-receptor. La interacción entre el receptor y la adenilato ciclasa es intermediada por una proteína G (Fig. 16-11). (El receptor, la proteína G y la adenilato ciclasa son, todos ellos, proteínas asociadas a la membrana.) Las **proteínas G** se denominan así debido a que unen nucleótidos de guanina. Se han caracterizado diversas proteínas G. La proteína G que estimula la síntesis de cAMP cuando se unen hormonas como el glucagón, la TSH y la adrenalina se denomina G_s. La G_i inhibe la adenilato ciclasa y por lo tanto hace descender las concentraciones de cAMP. En su estado sin estimular, las proteínas G unen GDP. Como consecuencia de la unión de la hormona y del cambio conformacional resultante, el receptor interacciona con una proteína G_s cercana. Al unirse la G_s al receptor, el GDP se disocia y se sustituye por GTP. La proteína G_s activada interacciona con la adenilato ciclasa y la estimula. (Las proteínas G normalmente contienen tres subunidades: α, β y γ. La subunidad α_s une los nucleótidos de guanina, posee actividad GTPasa y activa la adenilato ciclasa cuando se disocia del dímero $\beta\gamma$.) Las moléculas de cAMP que se forman por la adenilato ciclasa difunden al citoplasma, donde se unen a una proteína quinasa dependiente de cAMP y la activan. La proteína quinasa activa fosforila y, de esta forma, altera la actividad catalítica de enzimas reguladoras clave. La adenilato ciclasa permanece activa mientras que interacciona con α_s-GTP. Una vez hidrolizado el GTP a GDP, α_s-GDP se disocia de la adenilato ciclasa y se vuelve a asociar con el dímero $\beta\gamma$. El cAMP se hidroliza rápidamente por la fosfodiesterasa, lo que es un requerimiento crítico de un segundo mensajero; es decir, una vez generada, la señal debe terminarse rápidamente.

Las proteínas diana afectadas por el cAMP dependen de la clase de célula. Además, diversas hormonas pueden activar la misma proteína G. Por lo tanto, diferentes hormonas pueden producir el mismo efecto. Por ejemplo, la degradación del glucógeno en las células hepáticas la inician tanto la adrenalina como el glucagón.

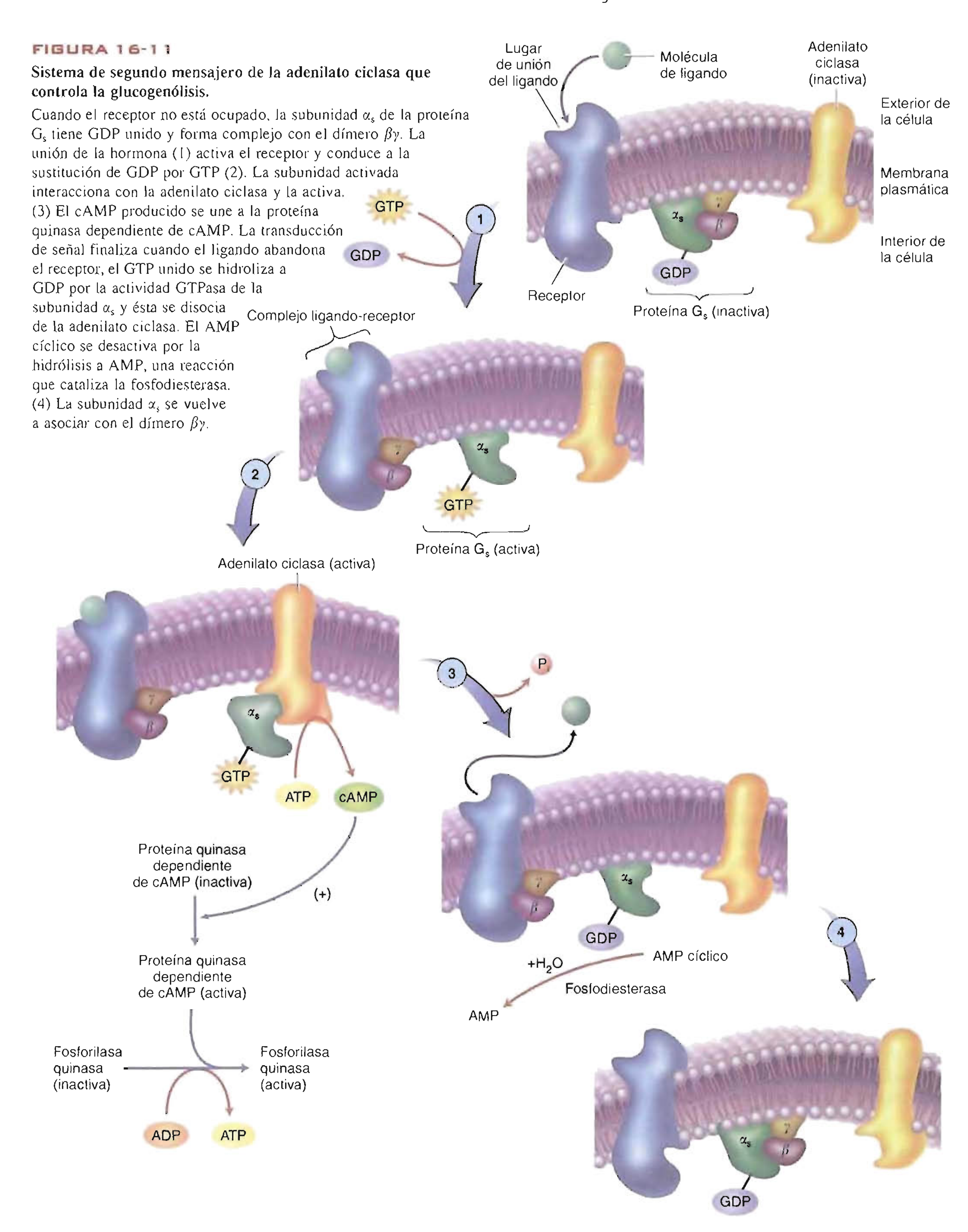
Algunas hormonas inhiben la actividad adenilato ciclasa. Estas moléculas disminuyen las reacciones de fosforilación de las proteínas celulares debido a que sus receptores interaccionan con una proteína G_i. Cuando la G_i se activa, su subunidad α_i se disocia del dímero $\beta\gamma$ e impide la activación de la adenilato ciclasa. Por ejemplo, la PGE_1 (prostaglandina E_1) disminuye la lipólisis debido a que sus receptores en los adipocitos están asociados con G_i. (Recuerde que el glucagón y la adrenalina estimulan la lipólisis.)

cGMP Aunque el cGMP se sintetiza en casi todas las células animales, su función en el metabolismo celular aún se encuentra relativamente sin definir. Sin embargo, se conoce la siguiente información. El cGMP se sintetiza a partir del GTP por la guanilato ciclasa. En la transducción de señal participan dos clases de guanilato ciclasa. En una clase, que se encuentra unida a las membranas, el dominio extracelular de la enzima es un receptor hormonal. La otra clase es una enzima citoplásmica.

FIGURA 16-11

Sistema de segundo mensajero de la adenilato ciclasa que controla la glucogenólisis.

Cuando el receptor no está ocupado, la subunidad α_s de la proteína G_s tiene GDP unido y forma complejo con el dímero $\beta\gamma$. La unión de la hormona (1) activa el receptor y conduce a la sustitución de GDP por GTP (2). La subunidad activada interacciona con la adenilato ciclasa y la activa. (3) El cAMP producido se une a la proteína quinasa dependiente de cAMP. La transducción de señal finaliza cuando el ligando abandona el receptor, el GTP unido se hidroliza a GDP por la actividad GTPasa de la subunidad α_s y ésta se disocia de la adenilato ciclasa. El AMP cíclico se desactiva por la hidrólisis a AMP, una reacción que cataliza la fosfodiesterasa. (4) La subunidad α_s se vuelve a asociar con el dímero $\beta\gamma$.

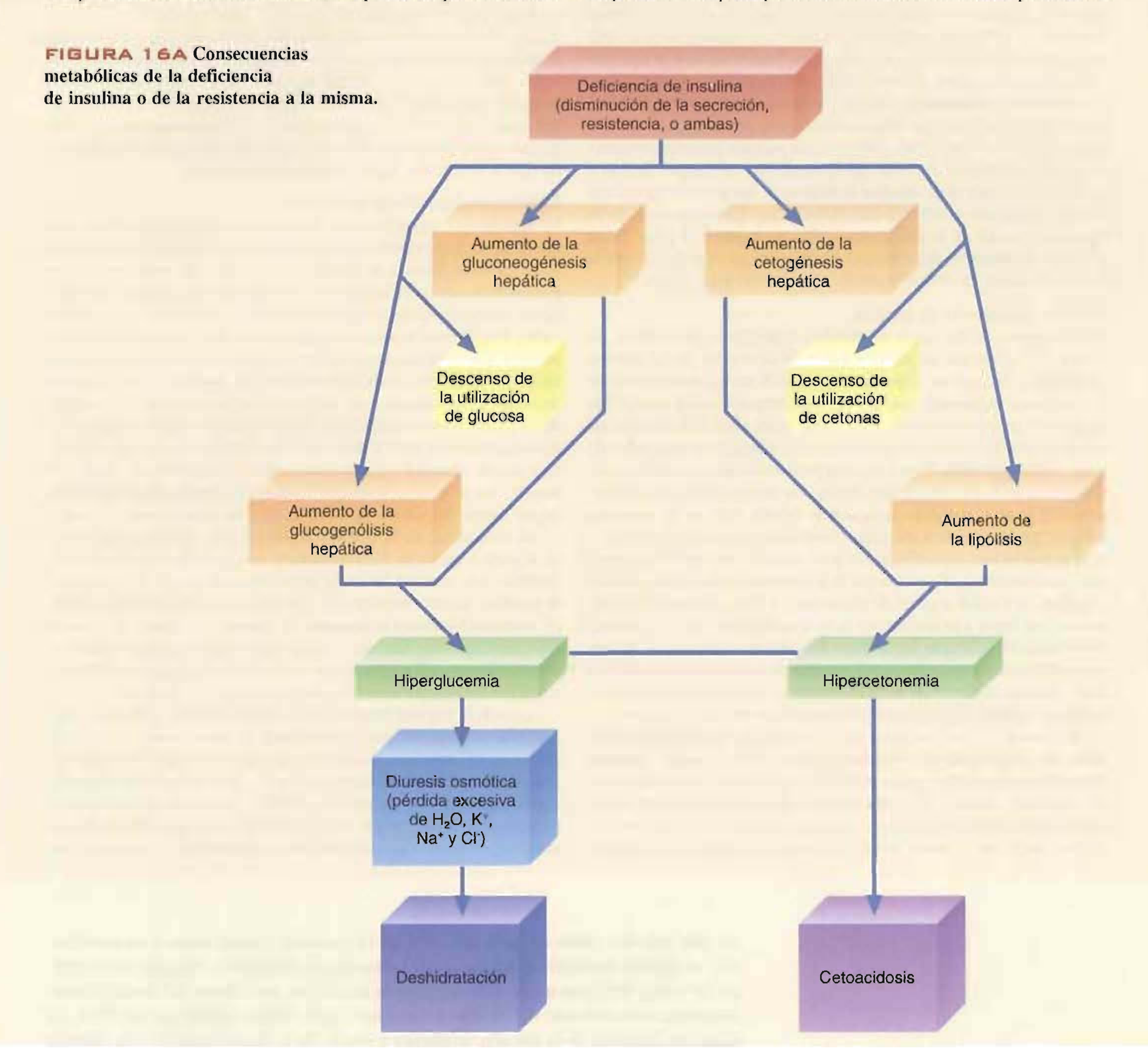


RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 16.3. Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas devastadoras producidas por una síntesis insuficiente de insulina, un aumento de la destrucción de la insulina, o una acción ineficaz de la insulina. Todos sus efectos metabólicos son consecuencia del fallo de las células del organismo para adquirir glucosa de la sangre. Los desequilibrios metabólicos que se producen tienen consecuencias importantes, potencialmente mortales (Fig. 16A). En la diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI), que también se denomina diabetes de tipo 1, se segregan cantidades inadecuadas debido a que las células β del páncreas se han destruido. Dado que la DMDI normalmente se produce antes de los 20 años de edad, hasta hace poco se ha denominado diabetes de comienzo juvenil. La diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI), que también se denomina diabetes de tipo 2 o de inicio en la edad adulta, está producida por la insensibilidad de los tejidos diana a la insulina. Aunque estas formas de diabetes comparten algunas características, se diferencian significativamente. Hace un tiempo la diabetes era poco frecuente, pero en la actualidad es la tercera causa de muerte en los Estados Unidos, donde afecta al menos al 5% de la población.

El síntoma más evidente de la diabetes es la **hiperglucemia** (concentraciones elevadas de glucosa en sangre), que se produce por una captación celular inadecuada de la glucosa. La gravedad de la diabetes varía considerablemente entre los diabéticos. Debido a que está limitada la capacidad del riñón para reabsorber la glucosa del filtrado urinario, aparece glucosa en orina (**glucosuria**). (El riñón filtra la sangre y luego reabsorbe del filtrado las sustancias como la glucosa, los aminoácidos y los iones.) La glucosuria produce **diuresis osmótica**, un proceso en el que la presencia de solutos en el filtrado produce una

FIGURA 16A Consecuencias metabólicas de la deficiencia de insulina o de la resistencia a la misma.



pérdida excesiva de agua y electrólitos (Na^+, K^+ y Cl^-). En casos graves, los pacientes pueden deshidratarse, a pesar del consumo de grandes cantidades de líquidos.

Sin insulina para regular el metabolismo de los combustibles, sus tres tejidos diana principales (hígado, tejido adiposo y músculo) no pueden absorber adecuadamente los nutrientes y en su lugar actúan como si el organismo estuviera padeciendo una inanición. En el hígado, la gluconeogénesis se acelera debido a que se movilizan grandes cantidades de aminoácidos del músculo y aumenta la síntesis de enzimas gluconeogénicas (Sección 8.2). La glucogenólisis (que normalmente está anulada por la insulina) produce más glucosa. El hígado proporciona estas moléculas de glucosa a un torrente sanguíneo ya hiperglucémico. El aumento de la lipólisis (Sección 12.1) en el tejido adiposo (producida por la acción sin oposición del glucagón) libera grandes cantidades de ácidos grasos a la sangre. En el hígado, debido a que estas moléculas se degradan mediante β-oxidación junto con unas concentraciones bajas de oxalacetato (ocasionadas por una gluconeogénesis excesiva), se producen grandes cantidades de acetil-CoA, el sustrato de la formación de los cuerpos cetónicos. Los ácidos grasos que no se utilizan para producir energía o cuerpos cetónicos se utilizan para la síntesis de VLDL. Este proceso produce hiperlipoproteinemia (concentraciones elevadas de lipoproteínas en sangre) debido a que cuando se carece de insulina la síntesis de lipoproteína lipasa está anulada. En efecto, muchas de las células de los diabéticos «mueren de hambre en medio de la abundancia». En casos graves, a pesar de un aumento del apetito y del consumo de alimento, el no poder utilizar la glucosa produce en última instancia cambios del peso corporal.

Diabetes dependiente de insulina

En la mayoría de los casos de diabetes dependiente de insulina, las células β productoras de insulina han sido destruidas por el sistema inmunitario. Aunque los síntomas de la DMDI suelen manifestarse de forma brusca, actualmente parece que la destrucción de las células β la produce un proceso inflamatorio que dura varios años. Los síntomas no son evidentes hasta que virtualmente se ha destruido la capacidad de producción de insulina. Como en otros procesos inflamatorios y autoinmunitarios, la destrucción de las células β se inicia cuando un anticuerpo se une a un antígeno de la superficie celular. Uno de los autoanticuerpos que se encuentra con mayor frecuencia en la diabetes de tipo 1 se cree que se une específicamente a un antígeno con actividad glutamato descarboxilasa. (Recuerde que la glutamato descarboxilasa cataliza la síntesis de GABA a partir de glutamato.) Se han detectado también anticuerpos frente a la insulina y a la tirosina fosfatasa IA-2. (La tirosina fosfatasa IA-2, una de las diversas enzimas que eliminan los grupos fosfato de residuos específicos de fosfotirosina en proteínas reguladoras clave, sólo se encuentra en el cerebro y en las células del páncreas que producen insulina). Se desconoce el significado de este fenómeno.

El síntoma agudo más grave de la diabetes de tipo 1 es la **cetoacidosis**. Las concentraciones elevadas de cetonas en la sangre (**cetosis**) y un pH sanguíneo bajo, junto con la hiperglucemia, producen pérdidas excesivas de agua. (Es característico de la cetoacidosis el olor a acetona de la respiración del paciente.) La cetoacidosis y la deshidratación, cuando no se tratan, pueden dar lugar a un coma y a la muerte. Los pacientes con DMDI se tratan con inyecciones de insulina que se obtiene a partir de animales o mediante técnicas de DNA recombinante. Antes de que Frederick Banting y Charles Best descubrieran la insulina en 1922, la mayoría de los diabéticos de tipo 1 fallecían antes de un año desde el momento de su diagnóstico. Aunque la insulina exógena prolonga la vida, no supone la curación. La mayoría de los diabéticos tienen acortada la duración de la vida debido a las complicaciones a largo plazo de su enfermedad.

En la actualidad muchos investigadores creen que la DMDI está producida por factores genéticos y ambientales. Aunque la causa precisa aún se desconoce, las personas que han heredado determinados marcadores genéticos tienen un mayor riesgo de padecer la enfermedad. Determinados antígenos HLA, esto es, HLA-DR3 y HLA-DR4, se encuentran en una gran mayoría de los diabéticos de tipo 1. Los *antígenos de histocompatibilidad* o *HLA*, que se encuentran en la superficie de la mayoría de las células del cuerpo, desempeñan un papel importante en la determinación de la reacción del sistema inmunitario frente a las sustancias o células extrañas. Si un paciente con ambos antígenos HLA-DR3 y HLA-DR4 tiene un gemelo idéntico, el riesgo del gemelo de padecer la enfermedad es aproximadamente del 50%. El que ese riesgo no sea del 100% sugiere que para padecer la diabetes de tipo 1 se requiere alguna exposición ambiental.

Diabetes no dependiente de insulina

La diabetes no dependiente de insulina es una enfermedad más leve que la forma dependiente de insulina. Su comienzo es lento, y a menudo se produce después de los 40 años de edad. En contraste con los pacientes de tipo 1, la mayoría de las personas con diabetes de tipo 2 tienen concentraciones sanguíneas de insulina normales o a veces elevadas. Por diversas razones, los pacientes de tipo 2 son resistentes a la insulina. La causa más frecuente de resistencia a la insulina es la regulación por disminución de los receptores de insulina. (Los receptores de insulina defectuosos o un procesamiento inadecuado del receptor de insulina producen también en algunos pacientes diabetes de tipo 2.) Aproximadamente el 85% de los diabéticos de tipo 2 son obesos. Debido a que la obesidad por sí misma produce insensibilidad tisular a la insulina, las personas que son propensas a esta forma de diabetes tienen mayor riesgo de padecer la enfermedad cuando aumentan de peso.

El tratamiento de la DMNDI normalmente consiste en un control de la dieta y ejercicio. Con frecuencia, los pacientes obesos son más sensibles a la insulina (es decir, tienen un aumento de los receptores de insulina) cuando pierden peso. Debido a que una actividad muscular mantenida aumenta la captación de glucosa sin requerir insulina, el ejercicio desciende también la hiperglucemia. En algunos casos, se utilizan fármacos hipoglucémicos orales. Se cree que estas moléculas estimulan una mayor secreción de insulina por el páncreas.

Cuando la imposibilidad de los pacientes diabéticos de tipo 2 para controlar la hiperglucemia se acompaña de otros trastornos médicos graves (p. ej., insuficiencia renal, infarto de miocardio o infecciones), puede aparecer un estado metabólico grave que se denomina **hiperglucemia hiperosmolar no cetósica** (HHNC). (La cetoacidosis es poco frecuente en la diabetes de tipo 2.) Debido a la agresión metabólica adicional, es decir, se agrava la resistencia a la insulina y aumenta la con-

Se sabe que dos clases de moléculas activan la guanilato ciclasa unida a las membranas: el péptido natriurético auricular y la enterotoxina bacteriana. El *factor natriurético auricular* (FNA) es un péptido que liberan las células auriculares del corazón como respuesta a un aumento del volumen sanguíneo. Los efectos biológicos del FNA, es decir, el descenso de la presión sanguínea a través de la vasodilatación y la diuresis

centración de glucosa en sangre. El paciente puede deshidratarse gravemente. El descenso del volumen sanguíneo anula la función renal, lo cual produce un mayor aumento de la concentración de glucosa en sangre. Finalmente, el paciente entra en coma. Debido a que el comienzo es lento, puede no reconocerse hasta que el paciente esté gravemente deshidratado. (Esto es más habitual en los diabéticos ancianos, que frecuentemente tienen deprimido el mecanismo de la sed.) Por esta razón, la HHNC suele representar un mayor peligro de muerte que la cetoacidosis.

Complicaciones a largo plazo de la diabetes

A pesar de los esfuerzos de los médicos y los pacientes para controlar los síntomas de la diabetes, pocos diabéticos evitan las consecuencias a largo plazo de su enfermedad. Los diabéticos son especialmente propensos a la insuficiencia renal, el infarto de miocardio, los accidentes cerebrovasculares, la ceguera y la neuropatía. En la *neuropatía diabética*, la lesión nerviosa produce la pérdida de funciones sensitivas y motoras. Además, los problemas circulatorios suelen producir gangrena, la cual lleva anualmente a decenas de miles de amputaciones.

La mayoría de las complicaciones de los diabéticos surgen del daño del sistema vascular. Por ejemplo, los capilares dañados del ojo y del riñón producen ceguera y lesión renal, respectivamente. De forma semejante, la forma acelerada de aterosclerosis que se encuentra en los diabéticos da lugar a casos graves de infartos de miocardio y accidentes cerebrovasculares. Actualmente se cree que la mayor parte de este daño se inicia por la hiperglucemia. Las concentraciones sanguíneas elevadas de glucosa promueven la glucosilación no enzimática de moléculas proteicas, un proceso que se denomina reacción de Maillard. La **reacción de Maillard** (que recibe este nombre por el químico francés que la descubrió en 1912) se inicia cuando un grupo aldehído o cetona de un azúcar se condensa con un grupo amino libre para formar una base de Schiff (Fig. 16B). La base de Schiff se reordena para formar una cetamina estable que se denomina **producto de Amadori**. Los productos de Amadori finalmente se degradan a productos reactivos que contienen carbonilos. Estos productos reactivos reaccionan con grupos amino libres y otras cadenas laterales de los aminoácidos de proteínas cercanas para formar un conjunto complejo de enlaces entrecruzados y aductos. (Un **aducto** es el producto de una reacción de adición. En las reacciones de adición, dos moléculas reaccionan para formar una tercera molécula.) Cuando las concentraciones sanguíneas de glucosa son elevadas, los productos finales de glucosilación se acumulan y producen una lesión importante en todo el sistema cardiovascular. Cuando las células que recubren los vasos sanguíneos se dañan, se inicia un proceso de reparación en el que intervienen los macrófagos y los factores de crecimiento que inadvertidamente promueve la aterosclerosis. La capacidad de los vasos sanguíneos afectados para nutrir al tejido cercano se ve comprometida.

Los diabéticos también padecen otra consecuencia de la hiperglucemia: aumento del metabolismo de la ruta del sorbitol. En algunas células que no requieren insulina para captar la glucosa (p. ej., las células de Schwann de los nervios periféricos y las del tejido ocular, como las células epiteliales del cristalino), la hexosa penetra mediante transporte facilitado a favor de su gradiente de concentración. La glucosa se convierte en sorbitol (pág. 208) por la enzima aldosa deshidrogenasa que requiere NADPH. La oxidación de algunas moléculas de sorbitol mediante la sorbitol deshidrogenasa para formar fructosa está acoplada a la reducción del NAD^+. El aumento de las concentraciones de NADH estimulan la reducción del piruvato para formar lactato. La acumulación de sorbitol y las variaciones redox que produce la oxidación del sorbitol se asocian con diversos cambios patológicos en los diabéticos, por ejemplo, las lesiones de los nervios y la formación de cataratas. Se desconoce el significado fisiológico de la ruta del sorbitol en las células normales.

FIGURA 16B Reacción de Maillard.

Cualquier molécula que contenga un grupo amino puede experimentar la reacción de Maillard, de forma que los nucleótidos y las aminas también reaccionan con las moléculas de glucosa. Sin embargo, las proteínas son más susceptibles a este proceso.

(aumento de la eliminación de la orina), parecen estar intermediados por el cGMP, que activa la enzima fosforilante proteína quinasa G. No está claro el papel de esta enzima en la intermediación de los efectos del FNA. Éste activa la guanilato ciclasa en diversas clases de células. En una clase, las de los túbulos colectores del riñón, la síntesis de cGMP estimulada por el FNA aumenta la eliminación renal de Na^+ y agua.

PREGUNTA 16.8

El término *diabetes*, que procede de la palabra griega *diabeinein* («ir hacia el exceso»), lo utilizó por vez primera Areteo (81-138 d. de C.) para identificar a un conjunto de síntomas que incluían una sed intolerable y «una licuefacción de la carne y los miembros en la orina». Tras revisar el Recuadro de Interés Especial 16.3, explique las bases fisiológicas y bioquímicas de los hallazgos de Areteo.

La unión de la *enterotoxina* (producida por varias especies bacterinas) a otra clase de guanilato ciclasa que se encuentra en la membrana plasmática de las células intestinales produce diarrea. Por ejemplo, una forma de la diarrea del viajero la causa una cepa de *E. coli* que produce *enterotoxina termoestable*. La unión de esta toxina a un receptor de la membrana plasmática de un enterocito ligado a la guanilato ciclasa desencadena la secreción excesiva de electrólitos y agua a la luz del intestino delgado.

La guanilato ciclasa citoplásmica posee un grupo prostético hemo. La enzima se activa por Ca^{2+}, de forma que un aumento del Ca^{2+} citoplásmico produce la síntesis de cGMP. Esta actividad guanilato ciclasa se activa por el NO (Recuadro de Interés Especial 10.1). Algunas pruebas sugieren que la unión del NO al grupo hemo activa la enzima. En varias clases de células (p. ej., células del músculo liso), el cGMP estimula los canales iónicos funcionales.

CICLO DEL FOSFATIDILINOSITOL Y EL CALCIO El ciclo del fosfatidilinositol (Fig. 16-12) intermedia las acciones de hormonas y factores de creci-

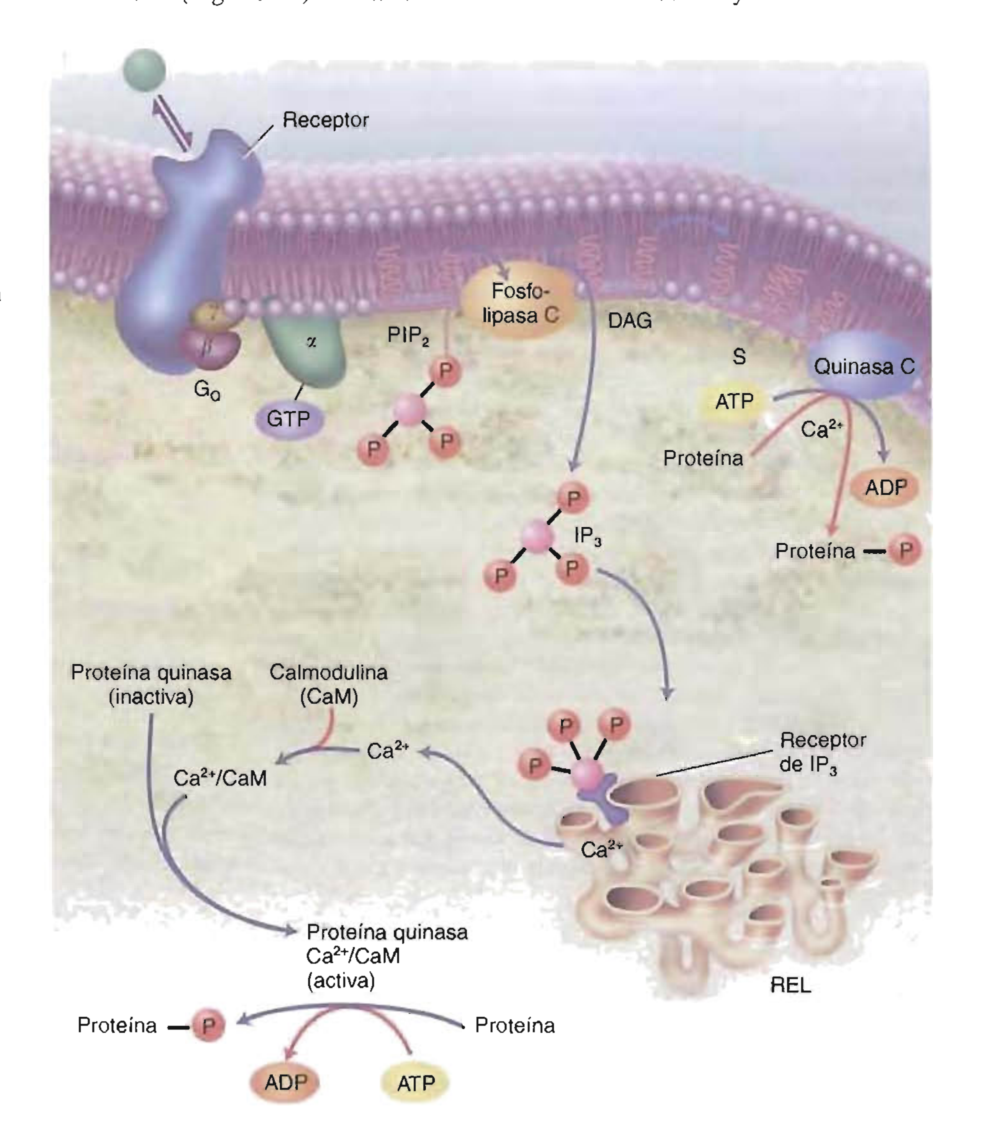


FIGURA 16-12

Ruta del fosfatidilinositol.

La unión de determinadas hormonas a su receptor activa la subunidad α de una proteína G. La subunidad α activa luego la fosfolipasa C que produce IP_3 a partir de PIP_2, dejando el DAG en la membrana. El DAG junto con la fosfatidilserina (PS) y el Ca^{2+} activa la proteína quinasa C, que a continuación fosforila compuestos reguladores clave. El IP_3 se une a receptores del REL, abriendo canales de Ca^{2+}. El Ca^{2+} se mueve hacia el citoplasma y activa otras dianas.

miento. Entre los ejemplos se encuentran la acetilcolina (p. ej., secreción de insulina en las células pancreáticas), la vasopresina, la TRH, la GRH y la adrenalina (receptores α_1). El fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2) se fracciona por la fosfolipasa C para formar los segundos mensajeros DAG (diacilglicerol) y IP_3 (inositol-1,4,5-trisfosfato). La fosfolipasa C se activa por un complejo hormona-receptor inducido por la activación de una proteína G. En el ciclo del fosfatidilinositol pueden participar varios tipos de proteína G. Por ejemplo, la G_Q (que se presenta en la Fig. 16-12) intermedia las acciones de la vasopresina.

El producto DAG de la reacción catalizada por la fosfolipasa C activa la proteína quinasa C. Se han identificado varias actividades proteína quinasa C. Dependiendo de la célula, la proteína quinasa C activada fosforila enzimas reguladoras específicas, activándolas o inactivándolas de esta manera.

Una vez generado, el IP_3 difunde al calciosoma (REL), donde se une a un receptor. El receptor de IP_3 es un canal de calcio. Las concentraciones citoplásmicas de calcio aumentan cuando fluyen los iones calcio a través del canal activado abierto. Las pruebas recientes señalan que la señal de calcio que estimula el IP_3 se potencia durante un breve período de tiempo por la liberación de otra señal (aún sin caracterizar) que activa un canal de calcio de la membrana plasmática. Los iones calcio participan en la regulación de un gran número de procesos celulares entre los que se encuentran la contribución a la activación de la proteína quinasa C asociada a la membrana. Dado que las concentraciones de calcio todavía son relativamente bajas aún cuando el mecanismo de liberación de calcio haya sido activado (aproximadamente 10^{-6} M), los lugares de unión del calcio sobre las proteínas reguladas por el calcio deben tener una afinidad elevada por el ion. Varias proteínas que unen calcio modulan la actividad de otras proteínas en presencia de calcio. La calmodulina, un ejemplo bien investigado de proteína que une calcio, intermedia muchas reacciones reguladas por el calcio. De hecho, la calmodulina es una subunidad reguladora de algunas enzimas (p. ej., fosforilasa quinasa, que convierte la fosforilasa b en fosforilasa a en el metabolismo del glucógeno).

CONCEPTOS CLAVE 16.6

Cuando una hormona hidrosoluble se une a un receptor de la membrana plasmática se genera una señal intracelular que se denomina segundo mensajero.

PREGUNTA 16.9

La unión de una molécula de hormona al receptor de su célula diana inicia una cascada enzimática que depende de un segundo mensajero y que tiene cinco pasos entre la señal primaria (hormona) y la activación de una determinada enzima reguladora (E_R). Si cada paso de amplificación aumenta diez veces las enzimas activadas, ¿cuántas moléculas de E_R pueden activarse por una única molécula de hormona?

PREGUNTA 16.10

Explique la secuencia de acontecimientos que tienen lugar cuando la adrenalina desencadena la síntesis de cAMP. Una vez formado, el cAMP se degrada rápidamente. ¿Por qué es ésta una característica importante para un segundo mensajero en un proceso de transducción de señal?

PREGUNTA 16.11

La toxina del cólera produce una diarrea masiva que puede ocasionar la muerte debido a que impide que la subunidad α de la G_s convierta el GTP en GDP. Describa por qué esta inhibición produce la diarrea. (*Pista*: Vea el Recuadro de Interés Especial 5.1.)

PREGUNTA 16.12

La *angina de pecho* es un síntoma muy doloroso de la enfermedad arterial coronaria. En este trastorno, que se produce por un estrechamiento de las arterias coronarias del corazón, el flujo insuficiente de oxígeno durante el ejercicio produce dolor torácico que se irradia hacia el cuello y el brazo izquierdo. Tradicionalmente, la angina de pecho se ha tratado con nitroglicerina. Actualmente se piensa que la nitroglicerina (Fig. 16-13) alivia el dolor estimulando la vasodilatación (incremento del diámetro de los vasos sanguíneos) de todo el cuerpo. La vasodilatación, que se produce por la relajación de la musculatura lisa, reduce la presión sanguínea, que a su vez reduce el gasto cardíaco del corazón. Sugiera cómo alivia la nitroglicerina la angina de pecho. (*Pista*: Los iones calcio citoplásmicos estimulan la contracción muscular.)

$CH_2—O—NO_2$
|
$CH—O—NO_2$
|
$CH_2—O—NO_2$

Nitroglicerina

FIGURA 16-13
Nitroglicerina.

PREGUNTA 16.13

El cáncer es el resultado de un proceso de varios pasos en el que hay un acontecimiento iniciador (que se produce por una infección vírica o una sustancia química cancerígena) tras el que sigue la exposición a promotores tumorales. Éstos, que son un grupo de moléculas que estimulan la proliferación celular, no pueden inducir por sí mismos la formación del tumor. Los ésteres de forbol, que se encuentran en el aceite de crotona (que se obtiene a partir de las semillas de la planta de crotona, *Croton tiglium*), son potentes promotores tumorales. (Otros ejemplos de promotores tumorales son los asbestos y diversos componentes del humo del tabaco.) En una de las acciones de estímulo tumoral de los ésteres de forbol, estas moléculas mimetizan las acciones del DAG. Al contrario que el DAG, los ésteres de forbol no se eliminan fácilmente. Explique las posibles consecuencias bioquímicas de los ésteres de forbol en una célula «iniciada». ¿Qué enzima activan el DAG y los ésteres de forbol?

Acetato de forbol miristato (PMA)
Un éster de forbol

Mecanismos de las hormonas esteroideas y tiroideas

Los mecanismos de transducción de señal de las moléculas de las hormonas hidrófobas, como las hormonas esteroideas y tiroideas, dan lugar a cambios de la expresión de los genes. En otras palabras, la acción de cada clase de molécula hormonal causan la activación o desactivación de un conjunto específico de genes, que a su vez causan variaciones del patrón de proteínas que produce una célula afectada. Las hormonas esteroideas y tiroideas son moléculas liposolubles que se transportan en la sangre hasta sus células diana unidas a diversas clases de proteínas. Entre las proteínas que transportan esteroides se encuentran la transcortina (que también se denomina globulina de unión de corticosteroides), la proteína de unión de andrógenos, la proteína de unión de hormonas sexuales y la albúmina. Las hormonas tiroideas son transportadas, además de por la albúmina, por la globulina de unión de hormonas tiroideas y la prealbúmina de unión de hormonas tiroideas.

Una vez que llegan a sus células diana, las moléculas de las hormonas hidrófobas se disocian de sus proteínas de transporte, difunden a través de la membrana plasmática y se unen a sus receptores intracelulares (Fig. 16-14). Estos receptores son moléculas de unión del ligando con afinidad elevada que pertenecen a una gran familia de proteínas de unión al DNA estructuralmente semejantes. Dependiendo de la clase de hormona, la unión inicial a los receptores puede tener lugar en el citoplasma (p. ej., los glucocorticoides) o en el núcleo (p. ej., los estrógenos, los andrógenos y las hormonas tiroideas). En ausencia de la hormona se ha observado que varios tipos de receptores forman complejos con otras proteínas. Por ejemplo, los receptores de glucocorticoides sin ocupar se encuentran en el citoplasma unidos a la hsp90. (Recuerde que hsp es la abreviatura de las proteínas de choque térmico. Véase en el Recuadro de Interés Especial 15.1 una breve consideración de las proteínas de cho-

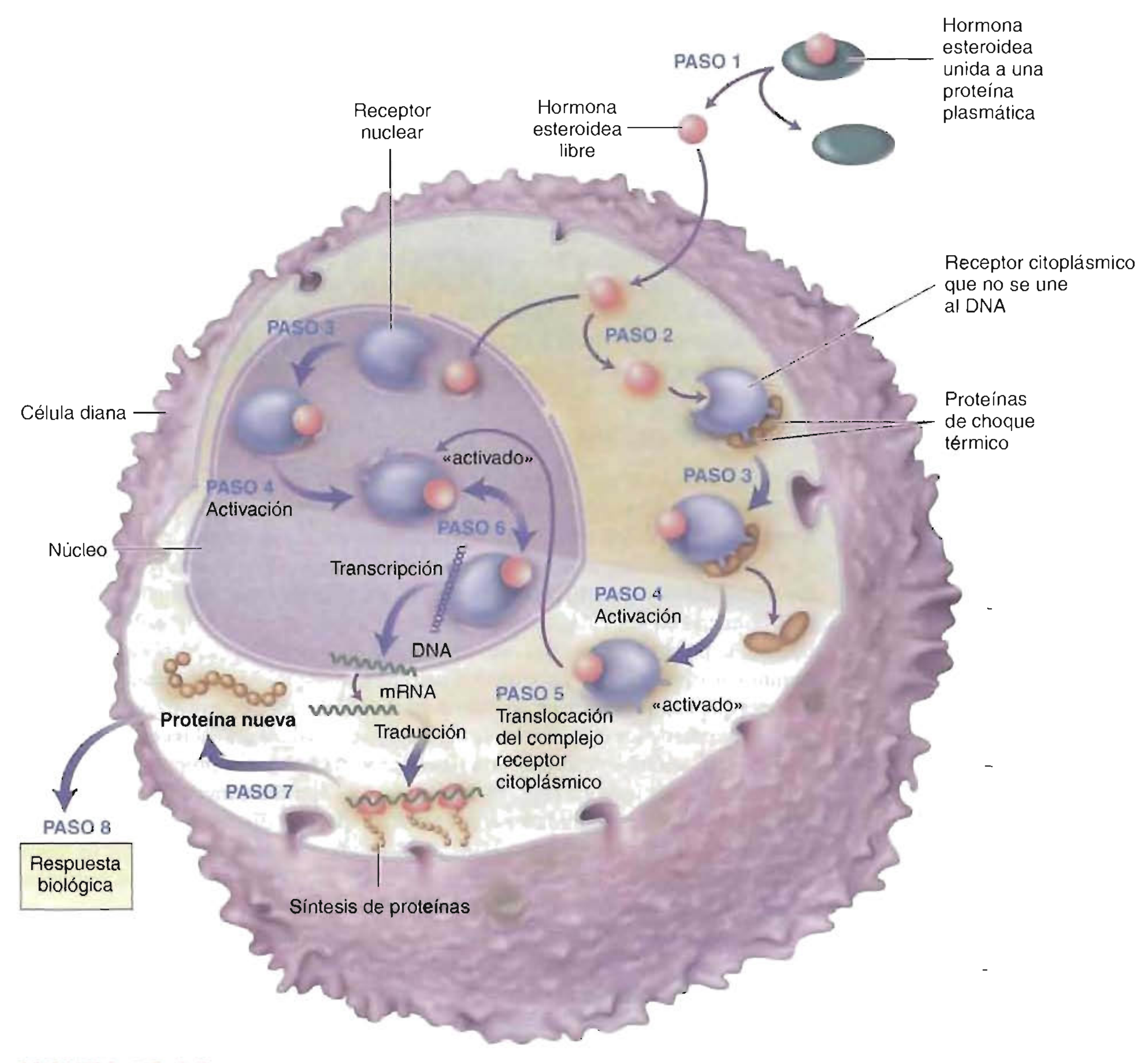


FIGURA 16-14

Modelo de la acción de las hormonas esteroideas en una célula diana.

Las hormonas esteroideas se transportan en la sangre asociadas con proteínas plasmáticas. Cuando alcanzan una célula y se liberan (1), las moléculas hormonales difunden a través de la membrana plasmática y se unen en el citoplasma (2) o el núcleo (3) a moléculas receptoras. Tras la activación (4), un complejo citoplásmico hormona-receptor migra al núcleo (5). La unión de un complejo hormona-receptor activado a las secuencias ERH dentro del DNA (6) da lugar a un cambio de la tasa de transcripción de genes específicos y, por lo tanto, del patrón de proteínas (7) que produce la célula. El efecto neto de la hormona esteroidea es un cambio de la actividad metabólica de la célula.

que térmico.) La unión de la hsp90 al receptor de glucocorticoides impide la unión inadecuada al DNA del receptor sin ocupar. Cuando se une la corticosterona al receptor, se produce un cambio de la conformación del receptor que hace que se disocie de la hsp90. Los dos receptores con la hormona unida se asocian para formar un complejo funcional que se traslada al núcleo.

Dentro del núcleo, cada complejo hormona-receptor se une a segmentos específicos de DNA que se denominan **elementos de respuesta a las hormonas** (ERH). La unión del complejo hormona-receptor a la secuencia de bases de un ERH a través de dominios dedos de cinc (véase la pág. 645) del receptor aumenta o disminuye la transcripción de un gen específico. (La *transcripción*, la síntesis de una copia de RNA de un gen, es el primer paso principal de la expresión de un gen. Véase el

CONCEPTOS CLAVE 16.7

Las hormonas hidrófobas, como los esteroides y las hormonas tiroideas, difunden a través de las membranas celulares y se unen a receptores intracelulares.

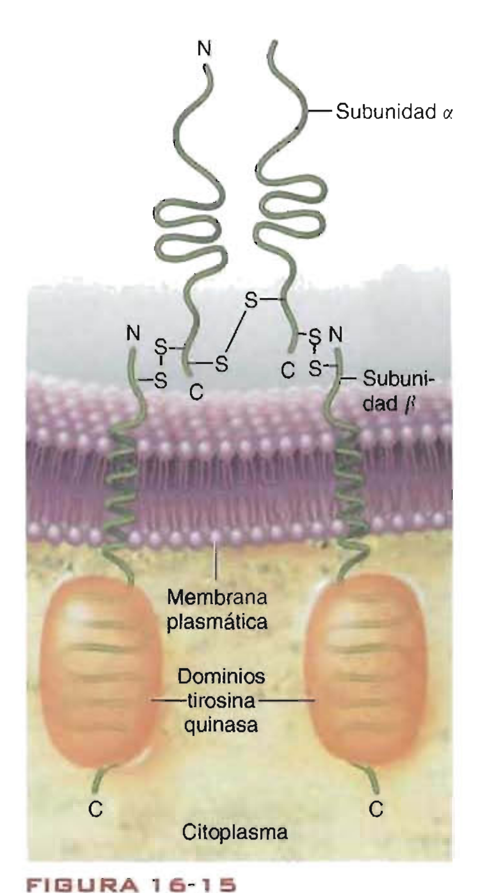


FIGURA 16-15
Receptor de insulina.
El receptor de insulina es un dímero formado por dos pares de subunidades α y β. Las subunidades están conectadas una a otra mediante puentes disulfuro.

Capítulo 18.) Diversos ERH pueden unirse al mismo complejo hormona-receptor de forma que la expresión de numerosos genes se altera simultáneamente. Se ha calculado que cada clase de ERH puede influir sobre la transcripción de entre 50 y 100 genes. Por consiguiente, la unión de un complejo hormona esteroidea-receptor a su correspondiente ERH induce cambios a gran escala de la función celular.

Una vez que la hormona tiroidea penetra en una célula, se une temporalmente a una proteína citoplásmica específica. Las moléculas de hormona tiroidea se dirigen al núcleo y a las mitocondrias, donde se unen a los receptores. En el núcleo, la unión de la hormona tiroidea inicia la transcripción de genes que desempeñan funciones cruciales en diversos procesos celulares, como los que codifican la hormona de crecimiento y la Na^+-K^+-ATPasa. En las mitocondrias, las hormonas tiroideas estimulan el consumo de oxígeno y aumentan la oxidación de los ácidos grasos. (No se conoce bien el mecanismo por el que se produce este último proceso.)

Receptor de insulina

El receptor de insulina es un miembro de una familia de receptores celulares de superficie de varios polipéptidos anabólicos, por ejemplo, EGF, PDGF e IGF-I. Aunque existen varias diferencias estructurales entre este grupo, todos poseen las siguientes características estructurales comunes: un dominio externo que une ligandos extracelulares específicos, un segmento transmembrana y un dominio catalítico citoplásmico con actividad tirosina quinasa. Cuando se une un ligando al dominio externo, se produce un cambio conformacional de la proteína receptora que activa el dominio tirosina quinasa. La actividad tirosina quinasa inicia una cascada de fosforilaciones que comienza con una autofosforilación del dominio tirosina quinasa. Dado que la mayoría de los esfuerzos investigadores se han dedicado al receptor de insulina, a continuación se describen su estructura y sus funciones propuestas.

El receptor de insulina (Fig. 16-15) es una glucoproteína transmembrana formada por dos clases de subunidades conectadas por puentes disulfuro. Las subunidades α grandes (130 kD) se extienden extracelularmente, donde forman el lugar de unión de la insulina. Cada una de las dos subunidades β (90 kD) contiene un segmento transmembrana y un dominio tirosina quinasa.

La unión de la insulina activa la actividad tirosina quinasa del receptor y produce una cascada de fosforilaciones que modula varias proteínas intracelulares. Por ejemplo, la unión de la insulina inhibe en los adipocitos la lipasa sensible a las hormonas. Aparentemente lo hace activando una fosfatasa que desfosforila la lipasa. Además, diversos modelos de acción de la insulina sugieren que en la activación de la proteína quinasa C se emplean varios segundos mensajeros, por ejemplo, el inositol monofosfato o el DAG.

La unión de la insulina parece iniciar una cascada de fosforilaciones que induce la transferencia de varias clases de proteínas a la superficie celular. Entre los ejemplos de estas moléculas se encuentran varias isoformas del transportador de glucosa y los receptores de LDL e IGF-II. El movimiento de estas moléculas hacia la membrana plasmática en la fase de postabsorción del ciclo alimentación-ayuno estimula la adquisición celular de nutrientes y señales promotoras del crecimiento.

La detección y medida de las hormonas es útil tanto en los laboratorios clínicos como en los de investigación. Antes del descubrimiento de los métodos modernos, las hormonas sólo podían detectarse indirectamente. Por ejemplo, en la vieja «prueba del conejo» para el embarazo, la orina de la paciente se inyectaba en una coneja. La formación de cuerpo amarillo en 24 horas en los ovarios del animal indicaba que la paciente estaba embarazada. (El cuerpo amarillo es una estructura que se forma a partir de un folículo ovárico tras la ovulación.) La hormona que induce esta transformación es la gonadotropina coriónica humana (HCG). (La HCG tiene una actividad biológica semejante a la hormona luteinizante (LH). Se produce sólo durante el embarazo por la placenta.) Además de ser complicados y necesitar mucho tiempo, los bioanálisis normalmente son poco sensibles e imprecisos; por ejemplo, la prueba de la coneja sólo es útil tras varias semanas de embarazo y es positiva o negativa, es decir, esta prueba sólo demuestra la presencia o ausencia de una determinada sustancia. No puede utilizarse para determinar la concentración de las sustancias. Finalmente, se descubrió una técnica que se denomina **radioinmunoanálisis** (RIA), que puede utilizarse para detectar y medir de forma precisa cantidades minúsculas de antígeno (cualquier molécula para la que se puede obtener un anticuerpo). En los radioinmunoanálisis se determinan las concentraciones de un antígeno específico midiendo la competencia por su unión a un anticuerpo del antígeno sin marcar con una cantidad conocida del mismo antígeno que está marcado radiactivamente. (Debe haber poco anticuerpo de forma que no puedan unirse todas las moléculas de antígeno.) Durante muchos años, el RIA fue el método más adecuado en la investigación hormonal, así como en otras muchas áreas de la bioquímica. Actualmente, se utiliza preferentemente una técnica más barata y más segura que es el análisis inmunosorbente con la enzima ligada (ELISA).

ELISA

Los **análisis inmunosorbentes con la enzima ligada** son semejantes al RIA en que utilizan los anticuerpos y son igual de sensibles. Por ejemplo, en la actualidad se dispone de pruebas de embarazo de ELISA baratas que pueden medir la HCG en orina de forma precisa a los dos días tras la concepción.

En general, el ELISA (Fig. 16C) consta de los siguientes pasos:

1. Se une un anticuerpo específico para un antígeno a una superficie inerte, por ejemplo, el fondo de un pocillo de una placa de poliestireno.
2. Se añade al pocillo una pequeña muestra del espécimen biológico (p. ej., sangre u orina). Si la muestra contiene el antígeno adecuado, se produce la unión antígeno-anticuerpo.
3. Se añade un segundo anticuerpo que se une también de forma específica al antígeno en un lugar diferente del que se une el anticuerpo inmovilizado. Este anticuerpo está unido covalentemente a una enzima que puede medirse.
4. Se lava el pocillo para eliminar el antígeno que no se haya unido o las moléculas de anticuerpo con la enzima ligada.
5. Se emplean los análisis enzimáticos para determinar la cantidad de antígeno presente. La enzima convierte un reactivo coloreado en uno sin color, o a la inversa. El cambio de color es proporcional a la concentración de antígeno de la muestra.

En otro tipo de método, se une un antígeno específico al pocillo. Cualquier anticuerpo capaz de unirse al antígeno presente en el espécimen biológico se une al antígeno inmovilizado. Tras lavarse el anticuerpo no unido, se añade al pocillo otro anticuerpo unido a una enzima que puede medirse que se une específicamente al primer anticuerpo.

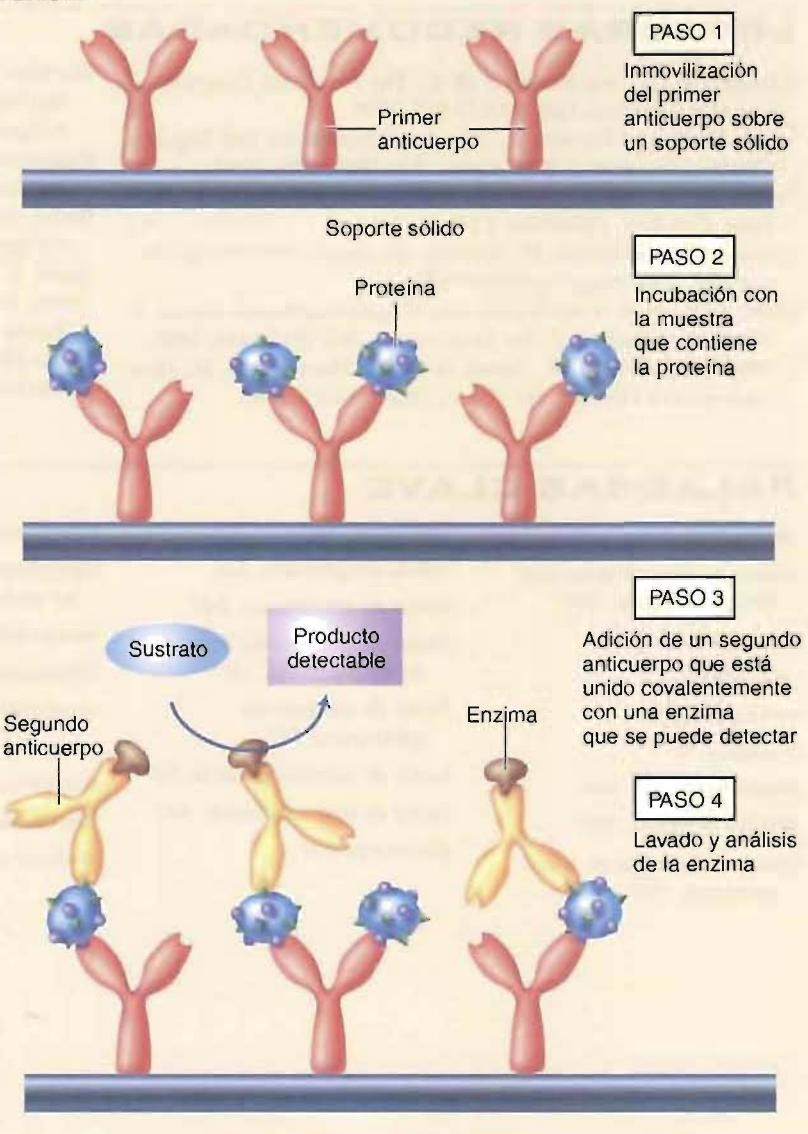


FIGURA 16C Análisis inmunosorbente con la enzima ligada (ELISA).
Las biomoléculas específicas como las hormonas proteicas pueden identificarse fácilmente y medirse sus concentraciones con el ELISA. En esta técnica un anticuerpo específico para la biomolécula (que se denomina antígeno) se une a un soporte sólido, como una placa de poliestireno. El espécimen que va a analizarse se añade a la placa, que a continuación se lava suavemente para eliminar el material que no se ha unido. Se añade posteriormente un segundo anticuerpo de unión del antígeno que está ligado covalentemente a una enzima. La presencia y concentración de la biomolécula que interesa se determina midiendo la cantidad de sustrato que la enzima convierte en producto.

RESUMEN

1. Los organismos multicelulares para asegurar la cooperación de todas sus células, tejidos y órganos requieren mecanismos reguladores sofisticados. Por ejemplo, el ciclo alimentación-ayuno ilustra la forma en que diversos órganos contribuyen a la adquisición de moléculas de alimento y a su utilización.
2. Las hormonas son moléculas que utilizan los organismos para transmitir la información entre las células. Cuando las células diana se encuentran lejos de la célula productora de la hormona, estas moléculas se denominan hormonas endocrinas. Para asegurar el control adecuado del metabolismo, la síntesis y secreción de muchas hormonas de los mamíferos se regulan por un mecanismo complejo de cascada que se controla en última instancia por el sistema nervioso central. Además, un mecanismo de retroacción negativa controla de forma precisa varias síntesis de hormonas. Diversas enfermedades están producidas por una sobreproducción o infraproducción de una hormona específica o por la insensibilidad de las células diana.
3. Los factores de crecimiento (o citoquinas) son un grupo de polipéptidos que regulan el crecimiento, la diferenciación o la proliferación de varias células. Se diferencian de las hormonas en que suelen producirse por diversas clases de células en lugar de por células glandulares especializadas.
4. Las hormonas y los factores de crecimiento normalmente inician sus efectos en una célula diana mediante su unión a un receptor específico. Las hormonas hidrosolubles típicamente se unen a un receptor sobre la superficie de la célula diana. Alteran las actividades de varias enzimas y/o los mecanismos de transporte. Las moléculas de segundos mensajeros, como el cAMP, el cGMP, el IP_3, el DAG y los Ca^{2+} intermedian los mensajes de una hormona o un factor de crecimiento. En general, las hormonas hidrofóbicas esteroideas y tiroideas se unen a receptores intracelulares. El complejo hormona-receptor se une a continuación a una secuencia de DNA que se denomina elemento de respuesta a las hormonas (ERH). La unión de un complejo hormona-receptor a un ERH aumenta o disminuye la expresión de genes específicos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Bootman, M. D., and Berridge, M. J., The Elemental Principles of Calcium Signaling, *Cell*, 83:675-678, 1995.

Czech, M. P., and Corvera, S., Signaling Mechanisms that Regulate Glucose Transport, *J. Biol. Chem.*, 274:1865-1868, 1999.

Hamm, H. E., and Gilchrist, A., Heterotrimeric G Proteins, *Curr. Opin. Cell Biol*, 8:189-196, 1996.

Hartmann, F., and Plauth, M., Intestinal Glutamine Metabolism, *Metabolism*, 38(8)(Supp 1):18-24, 1989.

Krebs, E. G., Role of the Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase in Signal Transduction, *J. Am. Med. Assoc.*, 262:1815-1818, 1989.

Lienhard, G. E., Slot, J. W., James, D. E., and Mueckler, M. M., How Cells Absorb Glucose, *Sci. Amer.*, 266(1):86-91, 1992.

Maclaren, N. K., and Atkinson, M. A., Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: The Hypothesis of Molecular Mimicry Between Islet Cell Antigens and Microorganisms, *Mol. Med. Today*, 3(2):76-83, 1997.

Rasmussen, H., The Cycling of Calcium as an Intracellular Messenger, *Sci. Amer.*, 261(4):66-73, 1989.

Rutter, G. A., Diabetes: The Importance of the Liver, *Curr. Biol.*, 10(20):R736-R738, 2000.

Smith, K. A., Interleukin-2, *Sci. Amer.*, 262(3):50-57, 1990.

Ulrich, P., and Cerami, A., Protein Glycation, Diabetes, and Aging, *Recent Prog. Hormone Res.*, 56:1-21, 2001.

Uvnas-Moberg, K., The Gastrointestinal Tract in Growth and Reproduction, *Sci. Amer.*, 261(1):78-83, 1989.

PALABRAS CLAVE

aducto, *553*
análisis inmunosorbente con la enzima ligada, *559*
célula diana, *532*
cetoacidosis, *552*
cetosis, *552*
citoquina, *547*
desensibilización, *545*
diuresis osmótica, *551*
elemento de respuesta a las hormonas, *557*
endocrino, *541*
estado estacionario, *531*
factor de crecimiento, *547*
factor de crecimiento derivado de las plaquetas, *547*
factor de crecimiento epidérmico, *547*
factor de necrosis tumoral, *547*
factor de tipo insulinoide, *547*
glucosuria, *551*
hiperglucemia, *551*
hiperglucemia hiperosmolar no cetósica, *552*
interferón, *547*
interleuquina-2, *547*
metabolismo basal, *542*
mitógeno, *547*
postabsorción, *536*
posprandial, *536*
producto de Amadori, *553*
proteína G, *549*
radioinmunoanálisis, *559*
reacción de Maillard, *553*
regulación por disminución, *545*
resistencia a la insulina, *545*
segundo mensajero, *533*
somatomedina, *547*
transducción de señal, 549

PREGUNTAS DE REVISIÓN

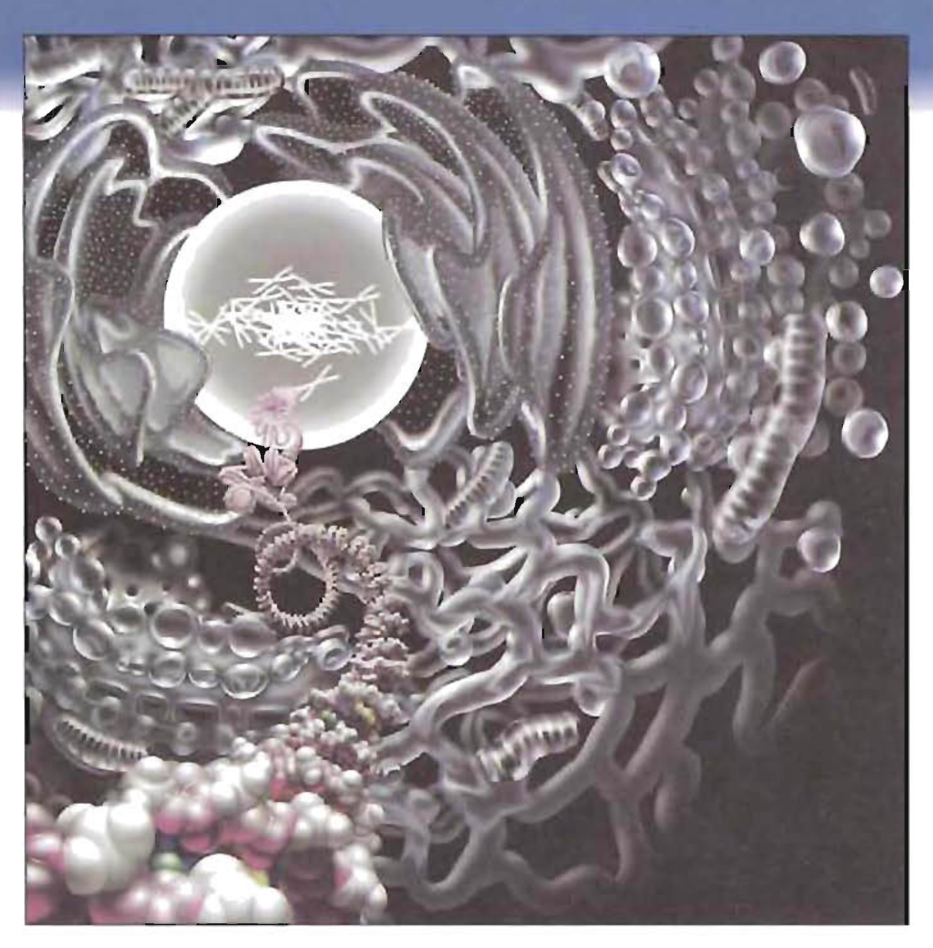
1. Defina los siguientes términos:
   a. cetoacidosis
   b. hiperlipoproteinemia
   c. neurofisina
   d. factor de crecimiento
   e. remanente de quilomicrón
   f. regulación por disminución
   g. proteína G
2. Qué órgano lleva a cabo cada una de las siguientes actividades:
   a. regulación del pH
   b. gluconeogénesis
   c. absorción
   d. integración nerviosa y endocrina
   e. lipogénesis
   f. síntesis de urea
3. Establezca la acción de cada una de las siguientes hormonas:
   a. corticotropina
   b. insulina
   c. glucagón
   d. oxitocina
   e. LH
   f. GnRH
   g. somatostatina
   h. vasopresina
   i. FSH
4. ¿Cuáles son las funciones generales de las hormonas en el cuerpo?
5. El NADH es un agente reductor importante del catabolismo celular, mientras que el NADPH es un agente reductor importante del anabolismo. Revise los capítulos anteriores y demuestre cómo están interconectadas la síntesis y la degradación de estas dos moléculas.
6. Exponga brevemente las principales clases de segundos mensajeros que se conocen.
7. Describa las formas generales de la acción hormonal.
8. ¿Qué son los ésteres de forbol y cómo promueven los tumores?
9. Tras 6 semanas de ayuno, la producción de urea disminuye. Explíquelo.
10. Una sed extrema es un síntoma característico de la diabetes. Explíquelo.
11. Durante períodos de ejercicio prolongado, los músculos queman la grasa que se libera de los adipocitos, además de la glucosa. Explique cómo se comunica a los adipocitos la necesidad de más ácidos grasos.
12. Los culturistas frecuentemente toman esteroides anabolizantes para aumentar su masa muscular. ¿Cómo consiguen este efecto los esteroides? (Entre los efectos secundarios frecuentes del abuso de esteroides anabolizantes están la insuficiencia coronaria, la conducta violenta y el cáncer de hígado.)
13. ¿Cuáles son cuatro funciones metabólicas del riñón? ¿Cómo las afecta la diabetes mellitus?
14. Durante los períodos de ayuno, algunas proteínas musculares se agotan. ¿Cómo se inicia este proceso y qué sucede con los aminoácidos de estas proteínas?
15. El riñón tiene una demanda inusualmente elevada de glutamina y glutamato. ¿Cómo mantiene el equilibrio de pH el metabolismo de estos compuestos?
16. Las moléculas de hemoglobina expuestas a concentraciones elevadas de glucosa se convierten en productos glucosilados. La más habitual, que se denomina hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) contiene un aducto glucosilado de la cadena β. Debido a que los eritrocitos viven alrededor de 3 meses, la concentración de HbA_{1c} es una medida útil del control del azúcar sanguíneo de los pacientes. En términos generales, describa cómo se forma y por qué, la HbA_{1c}.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. El metabolismo mantenido de las grasas sólo tiene lugar en presencia de hidratos de carbono. Explíquelo.
2. El hipotálamo y la hipófisis son dos glándulas endocrinas situadas una cerca de la otra en el encéfalo. Las secreciones del hipotálamo ejercen un efecto potente sobre la hipófisis; sin embargo, si la hipófisis se transporta de forma quirúrgica a lugares lejanos como el riñón, las secreciones del hipotálamo no tienen efecto. Sugiera una razón para esta observación.
3. Explique como actúa un segundo mensajero. ¿Por qué se utiliza un segundo mensajero en lugar de dejar simplemente que la hormona original produzca el efecto deseado?
4. Las personas a dieta suelen ayunar en un intento de reducir su peso. Durante estos ayunos, frecuentemente pierden una masa muscular considerable en lugar de grasa. ¿Por qué es esto así?
5. Está siendo acechado por un gran tigre. Explique cómo responde su metabolismo para ayudarle a escapar.
6. Durante el ayuno en el ser humano, el primer día se consumen virtualmente todas las reservas de glucosa. El cerebro requiere glucosa para funcionar y sólo se ajusta lentamente a otras fuentes de energía. Explique cómo aporta el cuerpo la glucosa que requiere el cerebro.
7. En la diabetes descontrolada, la concentración de iones hidrógeno se eleva. Explique de qué forma se generan estos iones.
8. ¿Por qué es importante para las hormonas actuar a concentraciones bajas y metabolizarse rápidamente?
9. Las hormonas suelen sintetizarse y almacenarse de una forma inactiva dentro de vesículas secretoras. La secreción normalmente sólo se produce cuando se estimula la célula que produce la hormona. Explique las ventajas que tiene este proceso sobre la formación de las moléculas de hormona sólo cuando se necesitan.
10. Las hormonas esteroideas suelen estar presentes en las células en concentraciones bajas, lo que hace difícil su aislamiento e identificación. Algunas veces es más fácil aislar las proteínas a las que se unen mediante cromatografía de afinidad. (Véase Métodos Bioquímicos 5.1.) Explique cómo utilizaría esta técnica para aislar una proteína que se sospecha une hormonas esteroideas.

CAPÍTULO DIECISIETE

Ácidos nucleicos



El genoma. Toda la información genética que se requiere para mantener los procesos vivos está codificada en la estructura molecular del DNA. En los eucariotas la mayoría del DNA está empaquetado en cromosomas complejos en el interior del núcleo.

SUMARIO

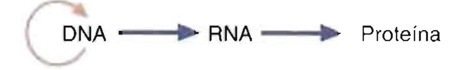
La determinación de la estructura del ácido desoxirribonucleico por James Watson y Francis Crick en los primeros años cincuenta fue la culminación de una investigación que había comenzado casi un siglo antes. Las consecuencias de su fundamental trabajo se están desplegando al irse revelando la información genética de diversos organismos, incluido el ser humano. La estructura y funcionamiento del DNA y de su compañero el RNA (ácido ribonucleico), que son asombrosamente complejos, continúan fascinando a los investigadores, y también a los estudiantes.

Durante incontables siglos, los seres humanos han observado los patrones de herencia sin entender los mecanismos que transmiten los rasgos físicos y los procesos evolutivos de los padres a la progenie. Muchas culturas humanas han utilizado estas observaciones para mejorar sus condiciones económicas, como en la crianza de los animales domésticos o en los cultivos. La investigación científica de la herencia, que actualmente se denomina **genética**, no empezó hasta el siglo XIX. Al comienzo del siglo XX, los científicos comenzaron a admitir de forma generalizada que los rasgos físicos se heredan en unidades discretas (que posteriormente se denominaron **genes**) y que los cromosomas del interior del núcleo son los depositarios de la información genética. Finalmente, se elucidó la composición química de los cromosomas y (tras muchas décadas de investigación) se identificó el ácido desoxirribonucleico (DNA) como la información genética. En la actualidad, al conjunto completo de esta información de un organismo, codificado en la secuencia de nucleótidos de su DNA, se denomina su **genoma**.

La **biología molecular** es la ciencia que se dedica a elucidar la estructura y función de los genomas. El descubrimiento de la estructura del DNA como un conjunto helicoidal dúplex de polímeros de nucleótidos por James Watson y Francis Crick en 1953 ha permitido a los científicos reexaminar la mayoría de los fenómenos biológicos utilizando las herramientas investigadoras descubiertas por los biólogos moleculares y los bioquímicos. En las cinco últimas décadas, en una de las investigaciones más fascinantes y complejas del siglo XX, los biólogos moleculares han formulado una visión general de la herencia biológica y de la transferencia de la información. Este trabajo ha descubierto los siguientes principios:

1. La información codificada en el DNA, que dirige el funcionamiento de las células y que se transmite a la progenie, consiste en una secuencia específica de bases nitrogenadas. La síntesis de DNA comporta el apareamiento complementario de las bases de los nucleótidos en las dos cadenas del DNA. La función fisiológica y genética del DNA requiere la síntesis de copias relativamente sin errores.
2. El mecanismo de descodificación y de utilización de la información genética en la dirección de los procesos celulares comienza con la síntesis de otra clase de ácido nucleico, el ácido ribonucleico (RNA). La síntesis de RNA tiene lugar mediante un apareamiento complementario de las bases de los ribonucleótidos con las bases de una molécula de DNA.
3. En la síntesis de las enzimas, las proteínas estructurales y otros polipéptidos que se requieren para la síntesis de las demás biomoléculas que intervienen en la función del organismo participan varias clases de RNA.

   En la siguiente secuencia se resume el flujo de la información biológica:



Este concepto se ha denominado «dogma central de la biología molecular» debido a que describe el flujo de la información genética desde el DNA a través del RNA y, finalmente, a las proteínas.

Debido a la naturaleza informativa de los procesos genéticos, se han copiado algunos términos descriptivos de otras ciencias de la información. Por ejemplo, la síntesis de DNA se suele denominar **replicación** (copiar o duplicar). De forma semejante, el proceso en el que se utiliza el DNA para sintetizar RNA se denomina **transcripción**. Cada molécula de RNA se denomina **transcrito**. La síntesis de proteínas se denomina **traducción**. Otros términos (p. ej., código genético, codón y anticodón), que se definen en el Capítulo 18, proceden también del lenguaje de la transferencia de la información. Se han ido introduciendo términos nuevos al ir utilizando los científicos técnicas analíticas cada vez más potentes y sensibles en sus investigaciones de los genes y de la expresión genética. Por ejemplo, el **transcriptoma** y el **proteoma** son conjuntos completos de moléculas de RNA y de moléculas de

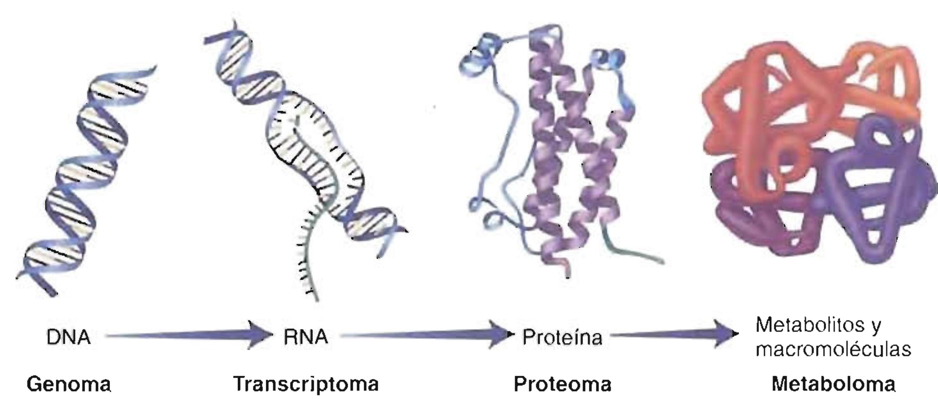


FIGURA 17-1

Información biológica.

Los avances tecnológicos han hecho posible el acceso a los genomas de un número creciente de organismos que previamente no podía imaginarse. El reto actual de los bioquímicos y otros científicos es cómo interpretar no sólo las cantidades masivas de información genética de las células (genoma), sino también cómo se expresa esta información a nivel de la transcripción (transcriptoma), la síntesis de proteínas (proteoma) y el metabolismo (metaboloma), de forma que puedan resolverse los problemas específicos biológicos y sanitarios.

proteínas, respectivamente, que se producen en el interior de una célula en circunstancias específicas (Fig. 17-1). El término **metaboloma** indica el conjunto completo de metabolitos orgánicos que se producen dentro de una célula bajo la dirección de su genoma. Además de las macromoléculas, estas moléculas incluyen azúcares, lípidos, aminoácidos y todos los demás derivados.

El Capítulo 17, que se centra en la estructura de los ácidos nucleicos, comienza con una descripción de la estructura del DNA y de las investigaciones que condujeron a su descubrimiento. A continuación se presenta el conocimiento actual de la estructura del genoma y de los cromosomas, así como la estructura y las funciones de las diversas formas de RNA. El Capítulo 17 termina con una descripción de los virus, complejos macromoleculares formados por ácido nucleico y proteínas que son parásitos celulares. En el Capítulo siguiente (Capítulo 18), se consideran varios aspectos de la síntesis y la función de los ácidos nucleicos (es decir, la replicación y la transcripción del DNA). En el Capítulo 19 se describe la síntesis de proteínas (traducción).

En Métodos Bioquímicos 17.1 y 18.1 se describen las estrategias y las técnicas que se utilizan habitualmente para aislar, purificar, caracterizar y manipular los ácidos nucleicos. En Métodos Bioquímicos 19.1 se describe el análisis de los proteomas, que se denomina **proteómica**.

PREGUNTA 17.1

¿Cuál es el dogma central de la biología molecular? ¿Cómo están relacionadas las características del dogma central con los términos genoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma?

17.1. DNA

El DNA está formado por dos cadenas de polinucleótidos enrolladas una alrededor de la otra para formar una doble hélice a derechas (Fig. 17-2). La estructura del DNA es tan característica que con frecuencia a esta molécula se le denomina la *doble hélice*. Como se ha descrito (Secciones 1.2 y 14.3), cada nucleótido monómero del DNA está formado por una base nitrogenada (púrica o pirimidínica), un azúcar desoxirribosa y fosfato. Los mononucleótidos están unidos mediante enlaces 3′,5′-fosfodiéster. Estos enlaces unen el grupo 5′-hidroxilo de la desoxirribosa de un nucleótido con el grupo 3′-hidroxilo de la unidad azúcar de otro nucleótido mediante un grupo fosfato (Fig. 17-3). La orientación antiparalela de las dos cadenas de

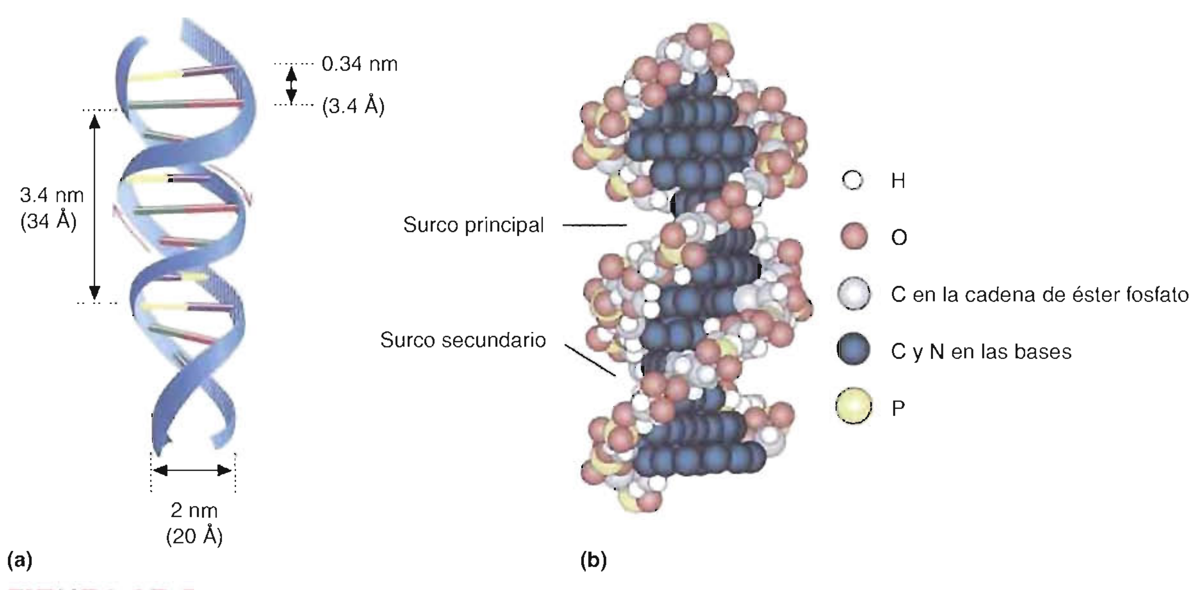


FIGURA 17-2

Dos modelos de la estructura del DNA.

(a) La doble hélice del DNA se representa como una escalera de caracol. Los lados de la escalera representan los esqueletos azúcar-fosfato. Los peldaños representan los pares de bases. (b) En el modelo de relleno espacial, los esqueletos azúcar-fosfato están representados por hilos de esferas coloreadas. Los pares de bases constan de disposiciones horizontales de esferas azul oscuro. Los surcos amplio y estrecho se crean al enrollarse las dos cadenas una alrededor de la otra.

A
T
G
C
5′
3′
Enlace fosfodiéster

FIGURA 17-3

Estructura de una cadena de DNA.

En cada cadena de DNA los residuos de desoxirribonucleótidos están conectados mediante enlaces 3′-5′-fosfodiéster. La secuencia de la sección de la cadena que se representa en esta figura es 5′-ATGC-3′.

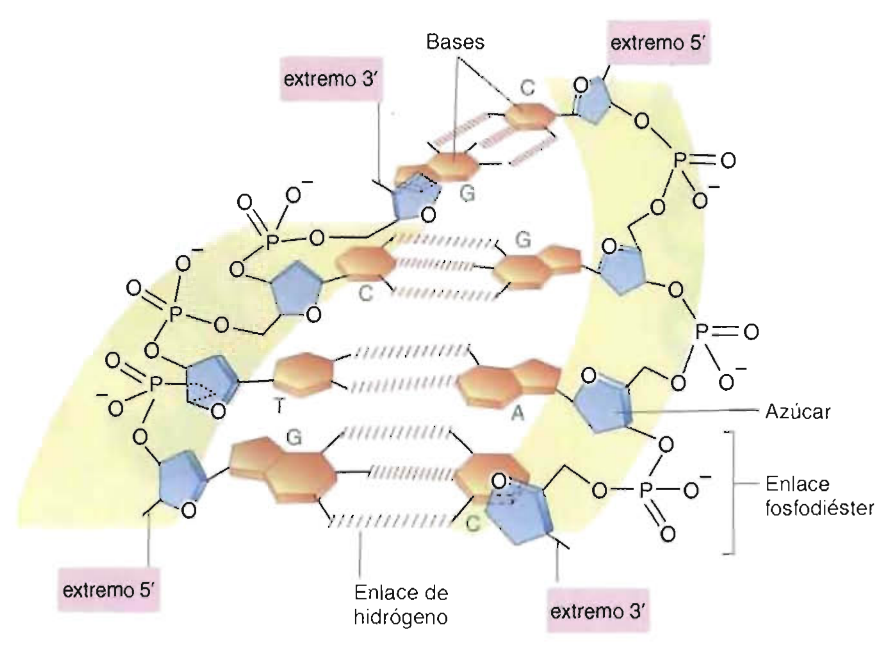


FIGURA 17-4

Estructura del DNA.

En este segmento corto de DNA se muestran las bases de color naranja y los azúcares de color azul. Cada par de bases se mantiene unido por dos o tres enlaces de hidrógeno. Las dos cadenas de polinucleótidos son antiparalelas. El orden de las bases de una cadena determina el orden de las bases de la otra debido al apeareamiento de bases.

polinucleótidos permite que se formen enlaces de hidrógeno entre las bases nitrogenadas que están orientadas hacia el interior de la hélice (Fig. 17-4). Existen dos clases de apareamientos de bases (pb) en el DNA: (1) la adenina (una purina) se aparea con la timina (una pirimidina) y (2) la purina guanina se aparea con la pirimidina citosina. Debido a que cada par de bases está orientado en ángulo con el eje largo de la hélice, la estructura global del DNA se parece a una escalera de caracol. Se han medido con precisión las dimensiones del DNA cristalino.

1. Una vuelta de la doble hélice ocupa 3.4 nm y está formada por aproximadamente 10.4 pares de bases. (Los cambios de pH y de concentración salina afectan estos valores ligeramente).
2. El diámetro de la doble hélice es 2.4 nm. Obsérvese que el espacio interior de la doble hélice sólo es adecuado para el apareamiento de una purina y una pirimidina. El apareamiento de dos pirimidinas crearía un hueco y el apareamiento de purinas desestabilizaría la hélice.
3. La distancia entre los pares de bases adyacentes es de 0.34 nm. El la Figura 17-5 se presentan las dimensiones relativas de ambos tipos de pares de bases.

De forma conveniente a su función en los procesos vivos, el DNA es una molécula relativamente inerte desde el punto de vista químico. Además, contribuyen a la estabilidad de su estructura helicoidal diversas clases de enlaces no covalentes:

1. Interacciones hidrófobas. La nube de electrones π del anillo de la base entre las bases púricas y pirimidínicas apiladas es relativamente apolar. El agrupamiento de los componentes de las bases de los nucleótidos dentro de la doble hélice es un factor estabilizador en la macromolécula tridimensional debido a que minimiza sus interacciones con el agua, aumentando de esta forma la entropía.

2. Enlaces de hidrógeno. Los pares de bases tan próximos dan lugar a enlaces de hidrógeno, tres entre los pares GC y dos entre los pares AT. El efecto «cremallera» acumulativo de estos enlaces de hidrógeno mantiene las cadenas en la orientación complementaria correcta.

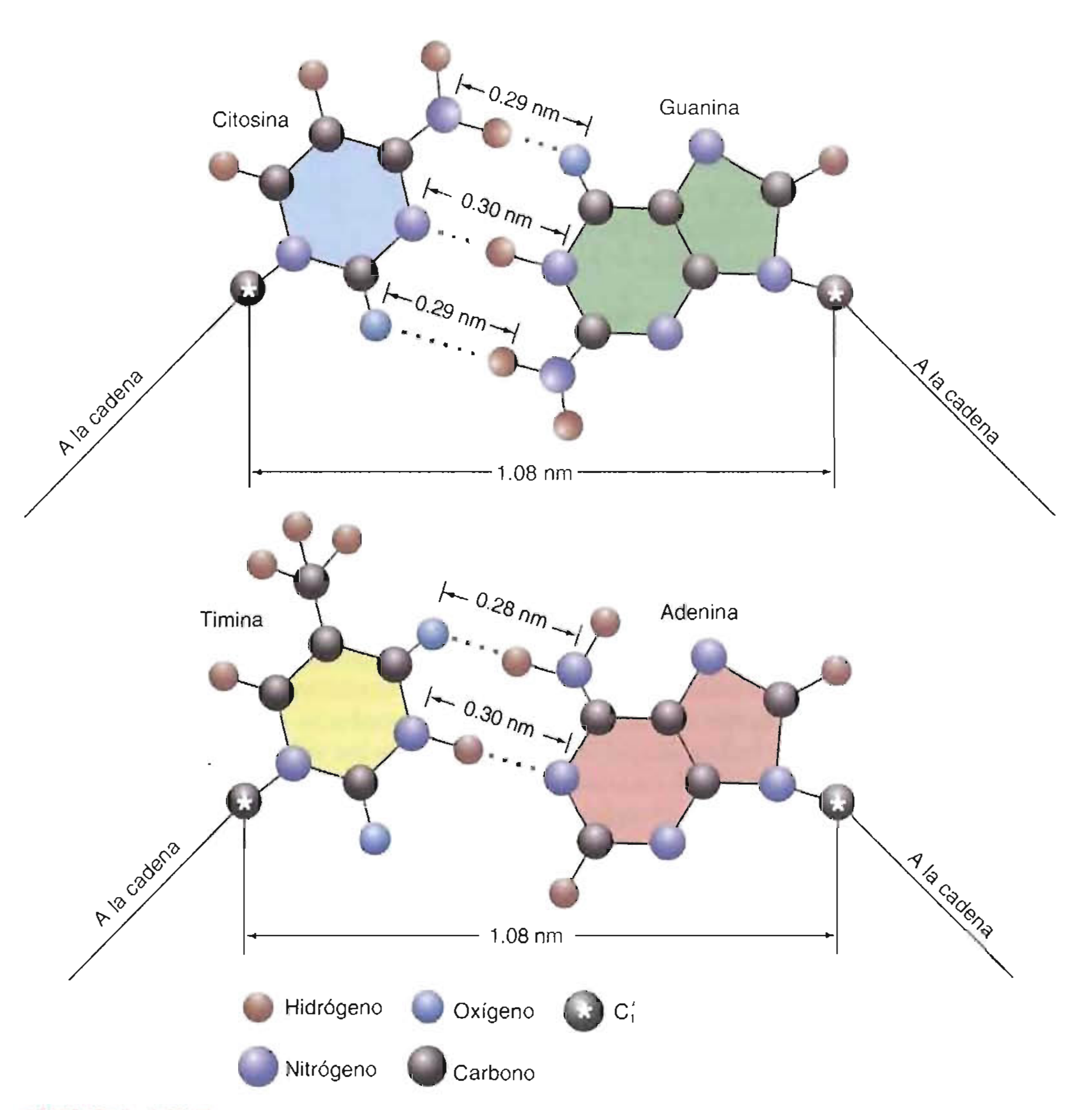


FIGURA 17-5

Estructura del DNA: Dimensiones de los pares de bases AT y GC.

Se forman dos enlaces de hidrógeno en cada par de bases AT y tres en cada par de bases GC. Las dimensiones globales iguales de ambos tipos de pares de bases permiten la formación de conformaciones helicoidales idénticas de las dos cadenas de polinucleótidos.

3. Apilamiento de bases. Una vez que las cadenas antiparalelas de polinucleótidos se han acercado mediante apareamiento de bases, el apilamiento paralelo de las bases heterocíclicas aproximadamente planas estabiliza las moléculas debido al efecto acumulativo de las fuerzas débiles de van der Waals.

4. Interacciones electrostáticas. La superficie externa del DNA, que se denomina *esqueleto azúcar-fosfato*, posee grupos fosfato cargados negativamente. La repulsión entre los grupos fosfato cercanos, una fuerza potencialmente desestabilizadora, se ve minimizada por los efectos de pantalla de los cationes divalentes como el Mg^{2+} y las moléculas policatiónicas como las poliaminas y las histonas (véase la pág. 580).

PREGUNTA 17.2

Describa como contribuye a la estructura helicoidal estable del DNA cada clase de interacciones no covalentes.

PREGUNTA 17.3

Cuando se calienta el DNA, se desnaturaliza, es decir, las cadenas se separan debido a que los enlaces de hidrógeno se rompen. Cuanto mayor es la temperatura, mayor es el número de enlaces de hidrógeno que se rompen. Tras revisar la estruc-

tura del DNA, determine cuál de las siguientes moléculas se desnaturalizará primero al aumentar la temperatura.

a. 5′-GCATTTCGGCGCGTTA-3′
   3′-CGTAAAGCCGCGCAAT-5′
b. 5′-ATTGCGCTTATATGCT-3′
   3′-TAACGCGAATATACGA-5′

CONCEPTOS CLAVE 17.1

El DNA es una molécula relativamente estable formada por dos cadenas antiparalelas de polinucleótidos enrolladas una alrededor de la otra para formar una doble hélice a derechas.

Estructura del DNA: Naturaleza de la mutación

El DNA está perfectamente adecuado para el almacenamiento de la información. Sin embargo, a pesar de sus diversas características estructurales estabilizadoras, el DNA es vulnerable a varias clases de fuerzas rompedoras. Las colisiones del disolvente, las fluctuaciones térmicas y otros procesos rompedores espontáneos pueden dar lugar a mutaciones, cambios permanentes de la secuencia de bases de las moléculas de DNA. Además, una extensa variedad de xenobióticos, tanto naturales como artificiales, alteran la estructura del DNA. A continuación se dan varios ejemplos de factores mutagénicos bien conocidos.

Como se ha descrito (Fig. 14-22), las desviaciones tautómeras son cambios espontáneos de la estructura de las bases de los nucleótidos que interconvierten los grupos amino e imino y los grupos ceto y enol. Normalmente las desviaciones tautómeras afectan poco a la estructura del DNA. Sin embargo, si se forman los tautómeros durante la replicación del DNA, pueden producirse apareamientos de bases erróneos. Por ejemplo, la forma imino de la adenina no forma apareamiento de bases con la timina, sino que forma apareamiento de bases con la citosina (Fig. 17-6). Si no se corrige inmediatamente este apareamiento, se produce una mutación de transición debido a que durante el proceso de replicación se ha incorporado citosina en una posición que debería llevar timina. En una **mutación de transición**, se sustituye una pirimidina por otra pirimidina, o una purina por otra purina. Las mutaciones de transición son **mutaciones puntuales**, ya que los cambios de la secuencia de bases

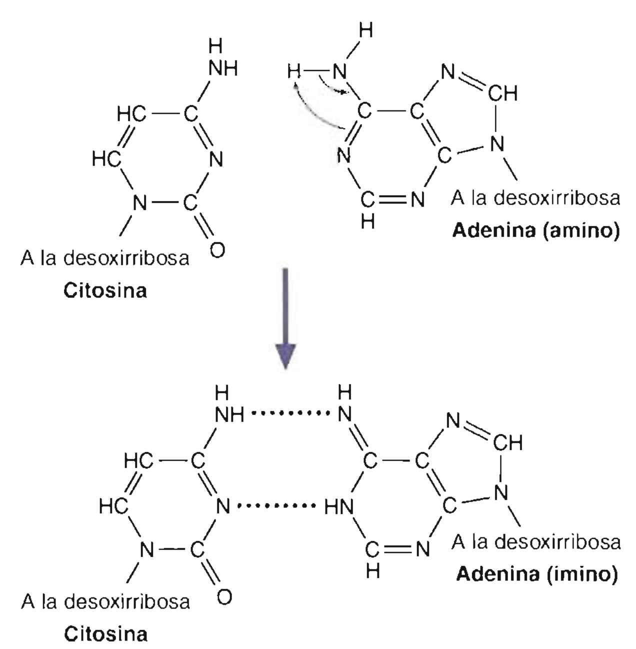


FIGURA 17-6

La desviación tautómera produce una mutación de transición.
Al experimentar la adenina una desviación tautómera, su forma imino puede formar pares de bases con la citosina. La transición se presenta en la segunda generación de la replicación del DNA cuando la citosina forma apareamiento de bases con la guanina. De esta forma se sustituye un par de bases A-T por un par de bases G-C.

comportan un único par de bases. En el ejemplo que se describe, un par de bases AT se sustituye por un par de bases GC en la segunda generación de la replicación del DNA.

Varias reacciones hidrolíticas espontáneas también dañan al DNA. Por ejemplo, se ha calculado que diariamente se pierden varios miles de bases de purina del DNA de cada célula humana. En las reacciones de despurinación se rompe el enlace N-glucosilo entre una base púrica y la desoxirribosa. La protonación de N-3 y N-7 de la guanina estimula la hidrólisis. Si los mecanismos de reparación no sustituyen el nucleótido de purina, se producirá una mutación puntual en el ciclo siguiente de replicación del DNA. De forma semejante, las bases pueden desaminarse de forma espontánea. Por ejemplo, el producto desaminado de la citosina se convierte en uracilo mediante una desviación tautómera. Finalmente, lo que debería ser un par de bases CG se convierte en un par de bases AT. (El uracilo tiene una estructura semejante a la timina.)

Algunos tipos de radiaciones ionizantes (p. ej., UV, rayos X y rayos γ) pueden alterar la estructura del DNA. Los niveles bajos de radiación pueden producir mutaciones; los niveles elevados pueden ser letales. El daño que induce la radiación, producido por un mecanismo de radicales libres (bien la extracción de átomos de hidrógeno o la creación de •OH, el radical hidroxilo), incluye roturas de las cadenas, entrecruzamientos DNA-proteína, aperturas de los anillos y modificaciones de las bases. El radical hidroxilo, que se forma por la radiólisis del agua, así como la agresión oxidativa (Sección 10.3), dan lugar a roturas de las cadenas y numerosas modificaciones de las bases (p. ej., timina glicol, 5-hidroximetil uracilo y 8-hidroxiguanina).

Timina glicol **5-Hidroximetil uracilo** **8-Hidroxiguanina**

El producto más habitual que induce la radiación UV son los dímeros de pirimidina (Fig. 17-7). La distorsión de la hélice que tiene lugar como consecuencia de la formación del dímero obstaculiza la síntesis de DNA.

Un gran número de xenobióticos pueden dañar al DNA. De estas moléculas, las más importantes pertenecen a las clases siguientes:

1. Análogos de las bases. Debido a que sus estructuras son semejantes a las bases normales de los nucleótidos, los **análogos de las bases** pueden incorporarse de

FIGURA 17-7
Estructura de los dímeros de timina.
Las timinas adyacentes forman dímeros con gran eficacia tras la absorción de luz UV.

forma inadvertida al DNA. Por ejemplo, la cafeína es un análogo de la base timina. Debido a que puede formar apareamiento de bases con la guanina, la incorporación de cafeína puede producir una mutación de transición.

2. Agentes alquilantes. La **alquilación** es un proceso en el que las sustancias electrófilas atacan a las moléculas que poseen un par de electrones sin compartir. Cuando los electrófilos reaccionan con estas moléculas, normalmente añaden grupos alquilo que contienen carbono. La adenina y la guanina son especialmente susceptibles a la alquilación, aunque la timina y la citosina pueden también afectarse.

Las bases alquiladas con frecuencia se aparean de forma incorrecta (p. ej., la metilguanina se aparea con la timina en lugar de con la citosina) lo que conduce a posibles mutaciones de transición en las siguientes rondas de replicación. En el caso de la metilguanina, el par GC se transforma en par AT. Las mutaciones de transversión también pueden tener lugar cuando el grupo alquilante es voluminoso. (En una **mutación de transversión**, otra clase de mutación puntual, una pirimidina se sustituye por una purina o viceversa.) Las alquilaciones también pueden promover la formación de un tautómero, que puede dar lugar a mutaciones de transición. Entre los agentes alquilantes se encuentran el dimetilsulfato y la dimetilnitrosamina. La mitomicina C es un agente alquilante bifuncional. Puede impedir la síntesis de DNA entrecruzando las bases de guanina. Los mecanismos de reparación del DNA (Sección 18.1) normalmente eliminan el anillo de la base anormal antes de la replicación y reducen la frecuencia de mutaciones.

3. Agentes no alquilantes. La estructura del DNA puede modificarse por diversas sustancias químicas además de los agentes alquilantes. El ácido nitroso (HNO_2), que procede de las nitrosaminas y del nitrito sódico ($NaNO_2$), desamina las bases. El HNO_2 convierte la adenina, la guanina y la citosina en hipoxantina, xantina y uracilo, respectivamente. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (p. ej., benzo[a]pireno son también mutagénicos. Una vez consumidas, estas moléculas pueden convertirse en derivados muy reactivos mediante reacciones de biotransformación como las que cataliza el citocromo P_{450} (Recuadro de Interés Especial 10.1). Los derivados reactivos pueden posteriormente formar aductos de la mayoría de las bases. El daño se produce principalmente debido a que esta modificación química impide el apareamiento de bases.

CONCEPTOS CLAVE 17.2

El DNA es vulnerable a determinados tipos de fuerzas de rotura que pueden dar lugar a mutaciones, cambios permanentes de su secuencia de bases.

4. Agentes intercalantes. Determinadas moléculas planas pueden distorsionar al DNA al insertarse (intercalarse) entre los pares de bases apilados de la doble hélice. Bien se eliminan pares de bases adyacentes o se insertan pares de bases nuevos. Si no se corrigen, las eliminaciones o adiciones producen las llamadas mutaciones de desplazamiento de marco (se describen en el Capítulo 19). Además, los cromosomas pueden romperse. Los colorantes de acridina son agentes intercalantes. La quinacrina es un colorante de acridina que se utiliza para tratar el paludismo y las tenias intestinales.

PREGUNTA 17.4

¿Cómo afectan cada una de las sustancias o condiciones siguientes a la estructura del DNA?

a. etanol b. calor c. dimetilsulfato d. ácido nitroso e. quinacrina

PREGUNTA 17.5

Considere cada uno de los compuestos siguientes. ¿A qué clase de xenobióticos que dañan el DNA pertenecen?

CH_3CH_2Cl

Cafeína Benzo[a]pireno Cloruro de etilo

PREGUNTA 17.6

La acumulación de daño oxidativo en el DNA parece ser la causa principal del envejecimiento de los mamíferos. Los animales que tienen un metabolismo elevado (es decir, que emplean grandes cantidades de oxígeno) o que eliminan grandes cantidades de bases modificadas en la orina, tienen vidas más cortas. La eliminación de cantidades relativamente grandes de bases oxidadas indica una reducción de la capacidad de impedir el daño oxidativo. A pesar de las pruebas sustanciales de que los radicales de oxígeno dañan al DNA, aún no está aclarado cuáles son los radicales que producen el daño. Además del radical hidroxilo, sugiera otros posibles culpables. Algunos tejidos mantienen un mayor daño oxidativo que otros. Por ejemplo, el cerebro humano se piensa que sostiene un mayor daño oxidativo que el resto de los tejidos durante un lapso promedio de vida. Sugiera dos razones para este fenómeno.

Estructura del DNA: Del jardín de Mendel a Watson y Crick

De acuerdo con la visión actual, la estructura del DNA es elegante y obvia. El DNA es actualmente un icono cultural, un sinónimo del concepto de almacenamiento y recuperación de la información. Como se ha mencionado, la estructura correcta del DNA la propusieron en 1953 James Watson y Francis Crick (Fig. 17-8). La investigación que condujo a este notable descubrimiento es instructiva por diversas razones. En primer lugar, como sucede con frecuencia en la investigación científica, el camino hacia la elucidación de la estructura del DNA fue largo, frustrante y tortuoso. Los seres vivos son tan complejos que es extraordinariamente difícil discernir cualquier aspecto de su función. Se añade a este obstáculo la propensión de los científicos (y otros seres humanos) a rechazar o ignorar la información nueva que no se ajusta cómodamente con las ideologías populares del momento. Este último problema es probablemente inevitable, debido a que el método científico requiere un determinado grado de escepticismo. (Por ejemplo, ¿cómo se distingue entre conceptos decisivos e ideas equivocadas?) Sin embargo, el escepticismo puede confundirse con frecuencia



FIGURA 17-8

El primer modelo estructural completo del DNA.

Cuando James Watson (izquierda) y Francis Crick descubrieron en 1953 la estructura del DNA utilizando los datos de Rosalind Franklin, eran estudiantes de investigación en el Laboratorio Henry Cavendish de la Universidad de Cambridge.

con una adhesión sin imaginación a la situación actual. Albert Szent-Gyorgyi (Premio Nobel de fisiología o medicina, 1937), que identificó el ácido ascórbico como la vitamina C y realizó contribuciones significativas para elucidar la contracción muscular y el ciclo del ácido cítrico, señaló en un momento, «El descubrimiento consiste en ver lo que todo el mundo ha visto y pensar lo que nadie ha pensado».

Una segunda razón más concreta para la duración del proceso de descubrimiento es que el desarrollo de nuevos conceptos con frecuencia requiere la integración de la información de varias disciplinas científicas. Por ejemplo, el modelo del DNA se basó en descubrimientos de biología descriptiva y experimental, genética, química orgánica y física. Los avances científicos significativos los hacen con frecuencia personas imaginativas y trabajadoras que tienen la buena suerte de trabajar cuando se dispone de información y tecnología suficiente para resolver los problemas científicos que les interesan. Los investigadores de esta clase con más talento suelen ayudar a crear nuevas tecnologías.

La revolución científica que finalmente condujo al modelo del DNA comenzó tranquilamente en el jardín de la abadía de un oscuro monje austríaco que se llamaba Gregor Mendel. Mendel descubrió las reglas básicas de la herencia cultivando guisantes. En 1865, Mendel publicó los resultados de sus experimentos de reproducción en el *Journal of the Brunn Natural History Society*. Aunque envió copias de esta publicación a biólogos eminentes de toda Europa, su trabajo fue ignorado hasta 1900. En ese año, varios botánicos de forma independiente redescubrieron la publicación de Mendel y se dieron cuenta de su significación. Este largo retraso se debió en parte a la naturaleza descriptiva de la biología del siglo XIX; pocos biólogos estaban familiarizados con las matemáticas que Mendel utilizó para analizar sus datos. En 1900, muchos biólogos tenían conocimientos de matemáticas. Además, este último grupo de científicos tenía un marco de referencia de los principios de Mendel, debido a que muchos de los detalles de la meiosis, la mitosis y la fertilización ya eran de conocimiento público.

Asombrosamente, se estaba investigando casi al mismo tiempo sobre la sustancia que constituía las unidades de la herencia a las que Mendel se refería en su trabajo. El descubrimiento de la «nucleína», que posteriormente se denominó ácido nucleico, lo realizó Friedrich Meischer, un patólogo suizo, en 1869. Trabajando con los núcleos de las células de pus, Meischer extrajo la nucleína y descubrió que era ácida y que contenía una gran cantidad de fosfato. (Aunque Joseph Lister publicó en 1867 sus descubrimientos sobre la cirugía antiséptica, los hospitales continuaron siendo una fuente abundante de pus durante los años siguientes.) Interesantemente, Meischer creyó (erróneamente) que la nucleína era un compuesto de almacenamiento de fosfato.

La composición química del DNA la determinó en gran medida Albrecht Kossel entre 1882 y 1897, y P.A. Levene en los años 1920 cuando se descubrieron las técnicas analíticas adecuadas. Desafortunadamente, Levene creyó erróneamente que el DNA era una molécula pequeña y relativamente sencilla. Su concepto, que se denominó *hipótesis del tetranucleótido*, retrasó significativamente más investigaciones del DNA. En su lugar, las proteínas (los otros componentes principales de los núcleos) se veían como los posibles transportadores de la información genética. (A finales del siglo XIX se aceptaba comúnmente que el núcleo contiene la información genética.)

Mientras que los genetistas se centraban en la investigación de los mecanismos de la herencia y los químicos elucidaban la estructura de los componentes de los ácidos nucleicos, los microbiólogos ponían a punto métodos para estudiar los cultivos bacterianos. En 1928, mientras estaba investigando una epidemia mortal de neumonía en Gran Bretaña, Fred Griffith realizó una serie notable de experimentos con dos cepas de neumococos. Una cepa bacteriana, que se denominaba la forma lisa (o el tipo L) debido a que estaba recubierta con una cápsula de polisacárido, es patógena. La forma rugosa (o tipo R) carece de la cápsula y no es patógena. Griffith observó que los ratones inoculados con una mezcla de las bacterias R vivas y las L destruidas por el calor, morían. Quedó asombrado cuando aisló las bacterias L vivas de los ratones muertos. Aunque esta transformación de las bacterias R en bacterias L se confirmó en otros laboratorios, el descubrimiento de Griffith se recibió con un escepti-

cismo considerable. (El concepto de transmisión de la información genética entre las células bacterianas no fue aceptado hasta los años 1950.) En 1944, Oswald Avery y sus colegas Colin MacLeod y Maclyn McCarty comunicaron su cuidadoso aislamiento e identificación del DNA como el agente transformador de los experimentos de Griffith. No todo el mundo aceptó esta conclusión debido a que su muestra de DNA tenía trazas de impurezas proteicas. Avery y McCarty demostraron posteriormente que la digestión del DNA por la desoxirribonucleasa (DNasa) inactivaba al agente transformador. (Finalmente, se determinó que el DNA que transforma los neumococos R en la forma L codifica una enzima necesaria para sintetizar la cápsula gelatinosa de polisacárido. Esta cápsula protege a las bacterias del sistema inmunitario del animal y aumenta la adherencia y colonización de los tejidos del hospedador.)

Otro experimento que confirmó que el DNA es el material genético fue realizado por Alfred Hershey y Martha Chase en 1952. Utilizando el bacteriófago T2, Hershey y Chase demostraron las funciones independientes del ácido nucleico y de las proteínas del virus. (Los *bacteriófagos*, que también se denominan *fagos*, son un tipo de virus que infectan a las bacterias.) Cuando el fago T2 infecta una célula de *Escherichia coli*, obliga a la bacteria a sintetizar varios cientos de virus nuevos. A los 30 minutos de la infección la célula muere al romperse, liberando la progenie vírica. En la primera fase de su experimento, Hershey y Chase incubaron bacterias infectadas con el fago T2 en un medio de cultivo que contenía ^{35}S (para marcar la proteína) y ^{32}P (para marcar el DNA). En la segunda fase, se recogía el virus marcado radiactivamente y se le permitía que infectara bacterias sin marcar. Inmediatamente después, el cultivo de bacterias infectadas se sometía a fuerzas de cizallamiento en una trituradora. Este tratamiento eliminaba al fago de sus lugares de unión en la superficie externa de la pared de la célula bacteriana. Tras la separación de las partículas víricas vacías mediante centrifugación, se analizaba la radiactividad de las bacterias. Se encontró que las células contenían ^{32}P (confirmando así el papel del DNA en la «transformación» de las bacterias en productoras de virus), mientras que la mayoría del ^{35}S permanecía en el sobrenadante. Además, las muestras de las bacterias infectadas marcadas producían algo de progenie vírica marcada con ^{32}P.

CONCEPTOS CLAVE 17.3

El modelo de estructura del DNA propuesto en 1953 por James Watson y Francis Crick se basaba en informaciones procedentes de los esfuerzos de muchas personas.

A principios de los años 1950, estaba claro que el DNA era el material genético. Debido a que los investigadores también reconocían que la información genética era esencial para todos los procesos vivos, una prioridad evidente era la determinación de la estructura del DNA. Linus Pauling (Instituto de Tecnología de California), Maurice Wilkins y Rosalind Franklin (King's College, Londres), y Watson y Crick (Universidad de Cambridge) se pusieron todos a trabajar con este objetivo. La estructura propuesta por Watson y Crick en el número del 25 de Abril de 1953 de la revista *Nature* se basaba en su modelo a escala.

Considerando la forma en la que la comunidad científica respondió a otros conceptos que señalaban al DNA como el material genético, su aceptación de la estructura de Watson y Crick fue particularmente rápida. En 1962, se concedió el Premio Nobel de Química a Watson, Crick y Wilkins.

La información que se utilizó para construir este modelo fue la siguiente:

1. Las estructuras químicas y las dimensiones moleculares de la desoxirribosa, las bases nitrogenadas y el fosfato.
2. Los cocientes 1:1 de adenina:timina y guanina:citosina del DNA aislado de una gran variedad de especies que había investigado Erwin Chargaff entre 1948 y 1952. (Esta relación se suele denominar **reglas de Chargaff**.)
3. Los soberbios estudios de rayos X realizados por Rosalind Franklin (Fig. 17-9) que indicaban que el DNA es una molécula simétrica y probablemente una hélice.
4. El diámetro y el paso de la hélice calculados por Wilkins y su colega Alex Stokes a partir de otros estudios de difracción de rayos X.
5. La demostración reciente hecha por Linus Pauling de que las proteínas, otra clase de moléculas complejas, podían encontrarse en una conformación helicoidal.

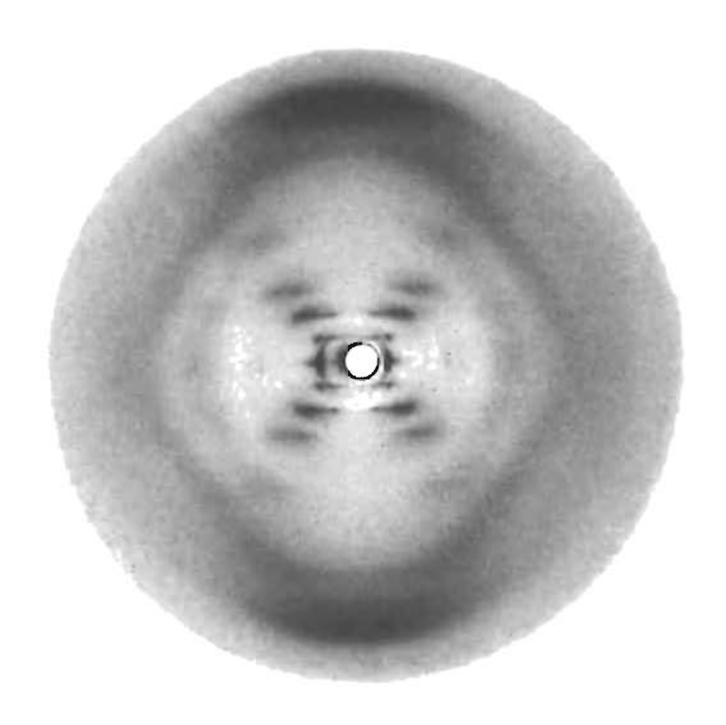


FIGURA 17-9

Estudio de difracción de rayos X de DNA hecho por Rosalind Franklin y R. Gosling.

Obsérvese la simetría del patrón de difracción de rayos X.

Estructura del DNA: Variaciones sobre un tema

La estructura descubierta por Watson y Crick, que se denomina **DNA B**, representa la sal sódica del DNA en unas condiciones de humedad elevada. El DNA puede asumir diferentes conformaciones debido a que la desoxirribosa es flexible y a que giran los enlaces glucosídicos C^1-N. (Recuerde que los anillos de furanosa tienen una conformación plegada.)

Cuando el DNA se deshidrata parcialmente, asume la forma A (Fig. 17-10 y Cuadro 17-1). En el **DNA A**, los pares de bases no se encuentran formando ángulos rectos con el eje de la hélice, sino que se doblan 20° alejándose de la horizontal. Además, la distancia entre los pares de bases adyacentes está ligeramente reducida con 11 pb por vuelta de la hélice, en lugar de los 10.4 pb que se encuentran en la forma B. Cada vuelta de la doble hélice se produce en 2.5 nm, en lugar de 3.4 nm, y el diámetro de la molécula se hincha hasta aproximadamente 2.6 nm desde los 2.4

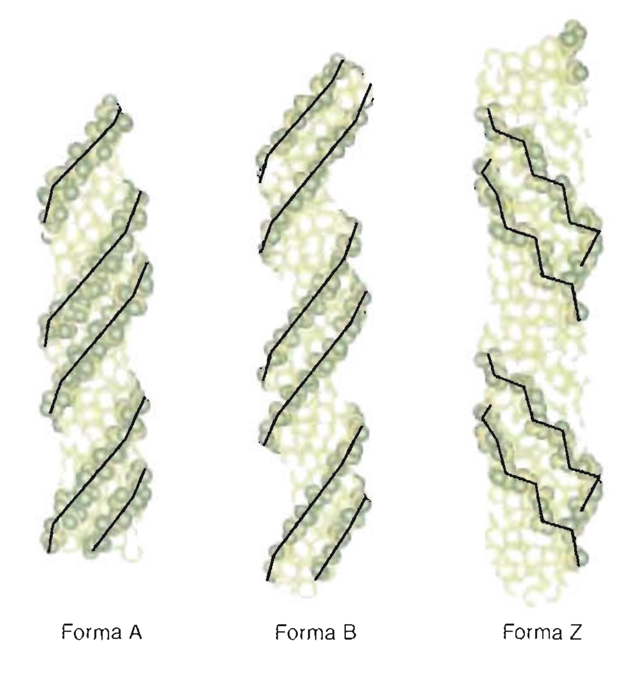


FIGURA 17-10

DNA A, DNA B y DNA Z.

Como el DNA es una molécula flexible, puede adoptar diferentes configuraciones, dependiendo de su secuencia de pares de bases y/o las condiciones en que se realice su aislamiento. Cada forma molecular de la figura posee el mismo número de pares de bases.

CUADRO 17-1

Propiedades estructurales selecionadas del DNA B, A y Z

	DNA B (Estructura de Watson-Crick)	DNA A	DNA Z
Diámetro de la hélice	2.4 nm	2.6 nm	1.8 nm
pb por vuelta de hélice	10.4	11	12
Rotación por pb	3.4 nm	2.5 nm	4.5 nm
Rotación de la hélice	A derechas	A derechas	A izquierdas

nm que se observan en el DNA B. La forma A del DNA se observa cuando se extrae con disolventes como el etanol. El significado del DNA A en las condiciones celulares es que la estructura de los dúplex de RNA y los dúplex de RNA/DNA que se forman durante la transcripción se asemejan a la estructura del DNA A.

La forma Z del DNA (que se llama así por su conformación en «zigzag») se aparta radicalmente de la forma B. El **DNA Z** (D = 1.8 nm), que es considerablemente más delgado que el DNA B (D = 2.4 nm), está enrollado en una espiral a izquierdas con 12 pb por vuelta. Cada vuelta del DNA Z se produce en 4.5 nm, en comparación con los 3.4 nm del DNA B. Los segmentos de DNA con bases púricas y pirimidínicas alternas (especialmente CGCGCG) son los que con mayor probabilidad adoptan la configuración Z. En el DNA Z, las bases se apilan con un patrón dimérico dispuesto a izquierdas, lo cual proporciona la apariencia de zigzag del DNA y su superficie plana sin canales. Las regiones del DNA con abundantes repeticiones CG frecuentemente son reguladoras, y unen proteínas específicas que inician o bloquean la transcripción. Aunque no está claro el significado fisiológico del DNA Z, determinados procesos relevantes como la metilación y el superenrollamiento negativo (que se considera en la pág. 578) estabilizan la forma Z. Además, se ha observado que se forman segmentos cortos como consecuencia de la tensión de torsión durante la transcripción.

Se ha observado que algunos segmentos de moléculas de DNA tienen diversas estructuras de orden superior, entre las que se encuentran las cruciformas, las triples hélices y los superenrollamientos. A continuación se describe brevemente cada una de ellas.

Como implica su nombre, las **cruciformas** (Fig. 17-11) son estructuras en forma de cruz. Suelen formarse cuando una secuencia de DNA contiene un palíndromo. (Un

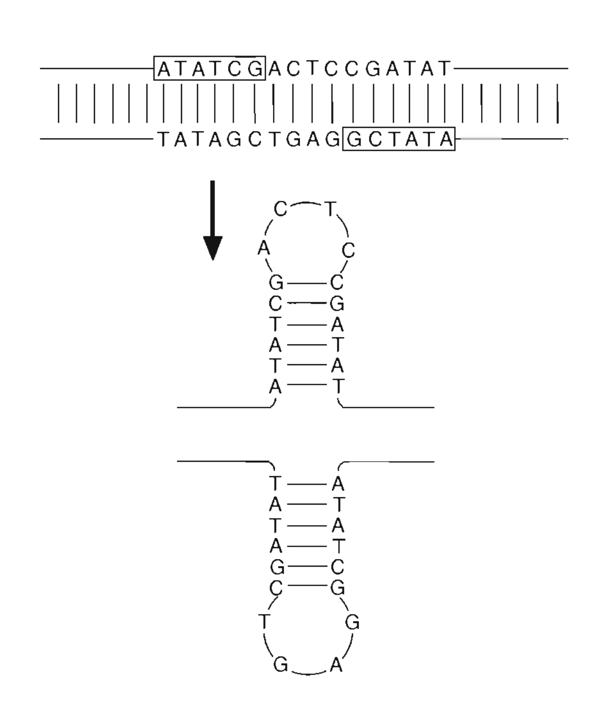


FIGURA 17-11

Cruciformas.

Las cruciformas se forman debido a las secuencias palindrómicas.

palíndromo es una secuencia que proporciona la misma información ya se lea hacia delante o hacia atrás, p. ej., «DÁBALE ARROZ A LA ZORRA EL ABAD».) En comparación con los palíndromos del lenguaje, las «letras» se leen en una dirección en una de las cadenas complementarias del DNA y en la dirección opuesta en la otra cadena. La mitad de cada palíndromo en cada cadena es complementario con la otra mitad. Las secuencias de DNA que forman palíndromos, que pueden constar de algunas bases o miles de bases, se denominan *repeticiones invertidas*. En uno de los mecanismos que se han propuesto, la formación de cruciformas comienza con una pequeña burbuja, o *protocruciforma*, y continua al formarse apareamientos de base intracatenarios. Se desconoce el mecanismo por el que se inicia la formación de la burbuja. No está clara la función de las cruciformas, pero se cree que se asocian con la unión de diversas proteínas al DNA. Los palíndromos de DNA también participan en una clase importante de enzimas que son las enzimas de restricción (Métodos Bioquímicos 18.1.)

En determinadas circunstancias (p. ej., pH bajo), una secuencia de DNA que contiene un segmento largo de una cadena de polipurina que forma enlaces de hidrógeno con una cadena de polipirimidina puede formar una triple hélice (Fig. 17-12). La formación de la *triple hélice*, que también se denomina **DNA H**, depende de la formación de apareamientos de bases no convencionales (**apareamientos de bases de Hoogsteen**), que se producen sin romper los pares de bases de Watson-Crick. No se conoce cuál es el significado del DNA H. Sin embargo, el DNA H puede participar en la recombinación genética (Sección 18.1).

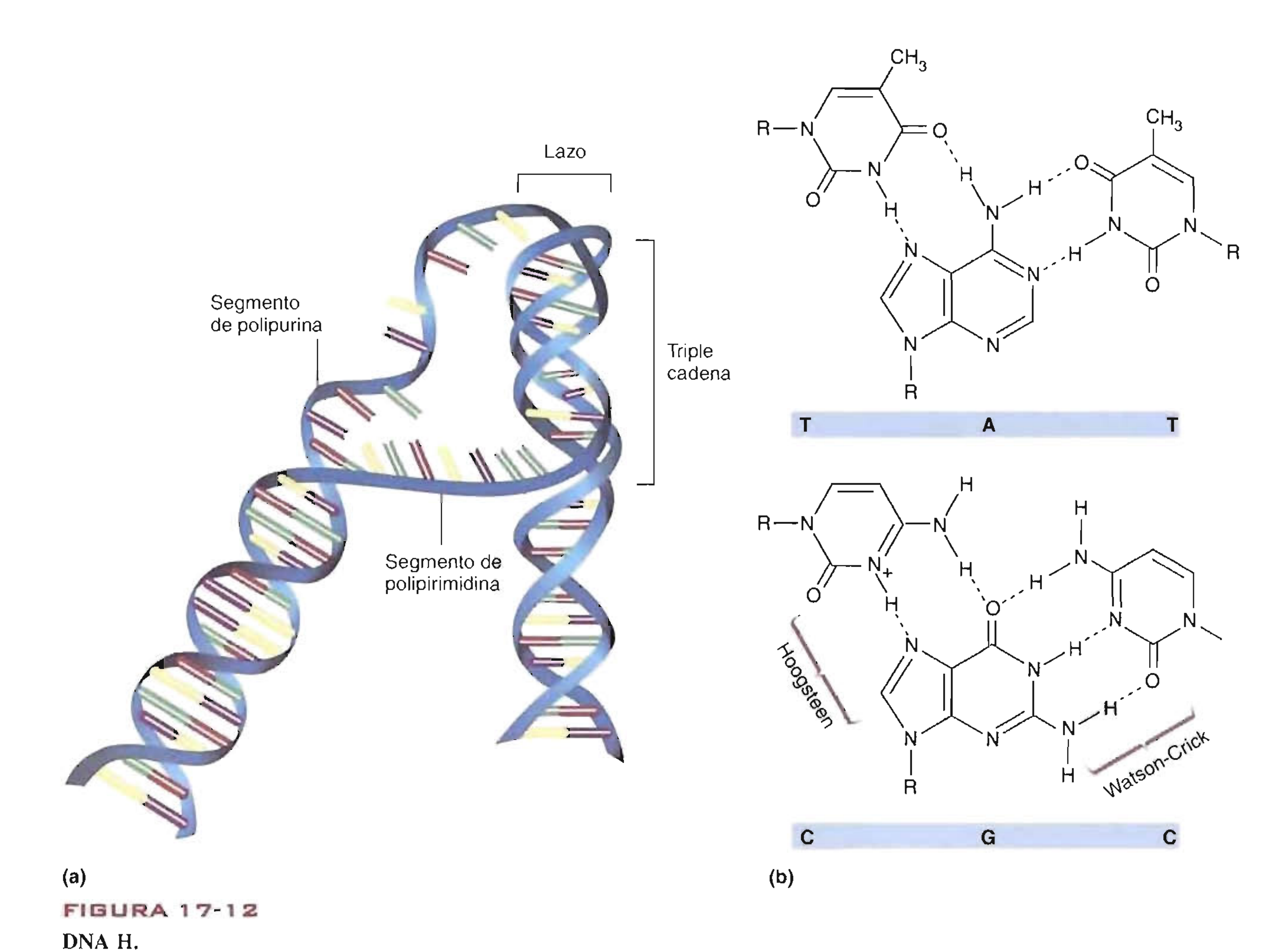
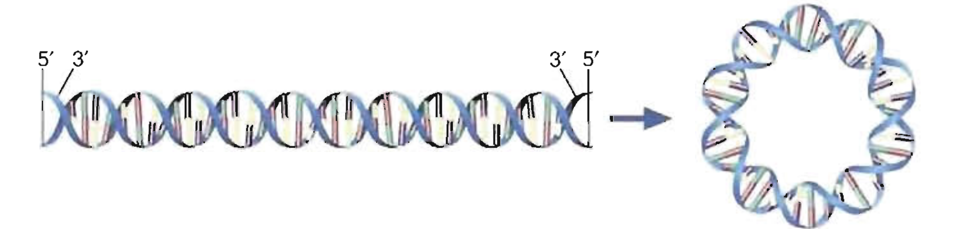


FIGURA 17-12
DNA H.
(a) Las secuencias de DNA con segmentos largos como (A-G)*n* unidos a (T-C)*n* pueden formar DNA H. (b) La formación de DNA H depende de la formación de apareamientos de bases no convencionales (Hoogsteen).

El empaquetamiento de las grandes moléculas de DNA para colocarlas dentro de las células requiere un superenrollamiento del DNA (se considera en la pág. 577). Para que se produzca el superenrollamiento, las moléculas de DNA deben mellarse y luego o bien sobreenrollarse o infraenrollarse antes de volverse a tapar el hueco. Los cambios pequeños de la forma del DNA dependen de la secuencia. Por ejemplo, cuatro pares AT secuenciales producen una curvatura en la molécula. Sin embargo, el doblamiento o enrollamiento significativo alrededor de proteínas asociadas requiere un superenrollamiento.

Superenrollamiento del DNA

El superenrollamiento del DNA, que en un tiempo se consideró un artefacto de las técnicas de extracción del DNA, se sabe en la actualidad que facilita diversos procesos biológicos. Entre los ejemplos se encuentran el empaquetamiento del DNA en una forma compacta, así como la replicación y la transcripción del DNA (Capítulo 18). Debido a que el superenrollamiento del DNA es un proceso dinámico tridimensional, la información que proporcionan las ilustraciones bidimensionales es limitada. Por lo tanto, para entender el superenrollamiento considere el siguiente experimento. Se deposita sobre una superficie plana una larga molécula lineal de DNA. Tras juntarse los extremos, se sellan para formar un círculo sin arrugas (Fig. 17-13a). Debido a que esta molécula está sellada sin infraenrollamientos o sobreenrollamientos, se dice que la hélice está relajada y permanece plana sobre una superficie. Si la molécula circular de DNA relajada se sujeta y se enrolla unas pocas veces, adopta la forma que se muestra en la Figura 17-13b. Cuando esta molécula enrollada se vuelve a depositar sobre la superficie plana, gira para eliminar el enrollamiento. Sin embargo, considere lo que sucede si esta molécula se corta antes de enrollarse. (Las enzimas que realizan esta función en las células, que se denominan topoisomerasas, se consideran en el Capítulo 18.)



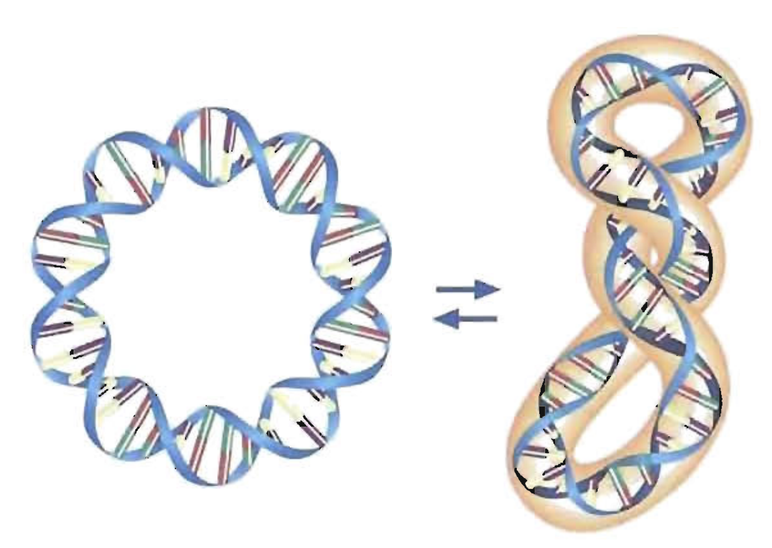


FIGURA 17-13

DNA lineal y circular y enrollamiento del DNA.

(a) Formación de una molécula relajada de DNA. (b) Cuando una molécula relajada se enrosca, vuelve a su estructura plana una vez que se ha liberado.

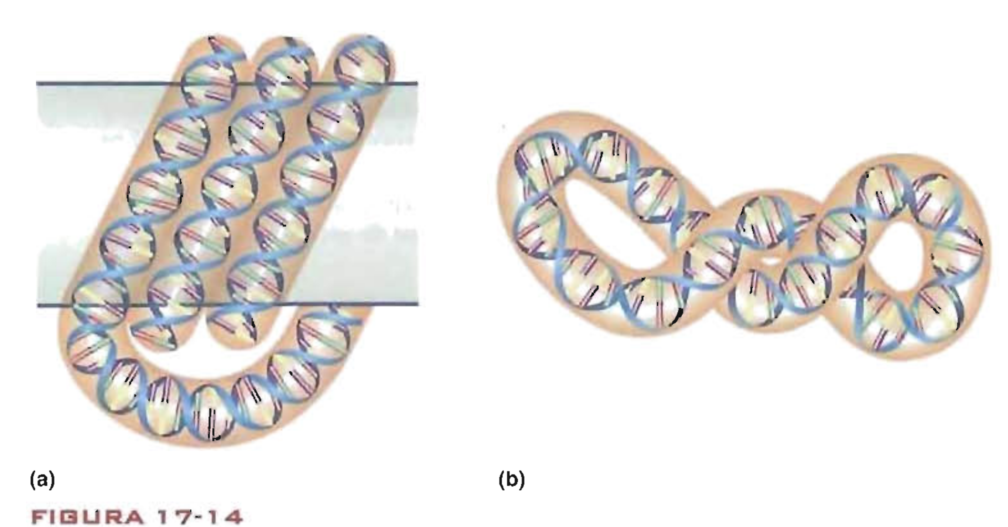


FIGURA 17-14

Superenrollamientos.

Los superenrollamientos se producen en dos formas principales: (a) toroidal y (b) entrelazada.

Cuando el DNA está infraenrollado, se enrolla a derechas para aliviar la tensión y se produce un *superenrollamiento negativo*. Cuando el DNA está sobreenrollado, se enrolla a izquierdas para aliviar la tensión y se produce un *superenrollamiento positivo*. Cuando el DNA está superenrollado negativamente, normalmente se enrolla sobre sí mismo para formar un superenrollamiento entrelazado (Fig. 17-14). El DNA superenrollado positivamente se encuentra normalmente donde el DNA se enrolla alrededor de un centro proteico para formar un superenrollamiento toroidal.

Cuando una moléculas de DNA superenrollada negativamente se fuerza sobre un plano, se reintroduce la tensión aliviada por la formación del superenrollamiento negativo (Fig. 17-15). Durante la replicación, las topoisomerasas (como la girasa de *E. coli*) mellan el DNA para aliviar la tensión de torsión de forma que pueda producirse la replicación. El superenrollamiento negativo del DNA explica también la

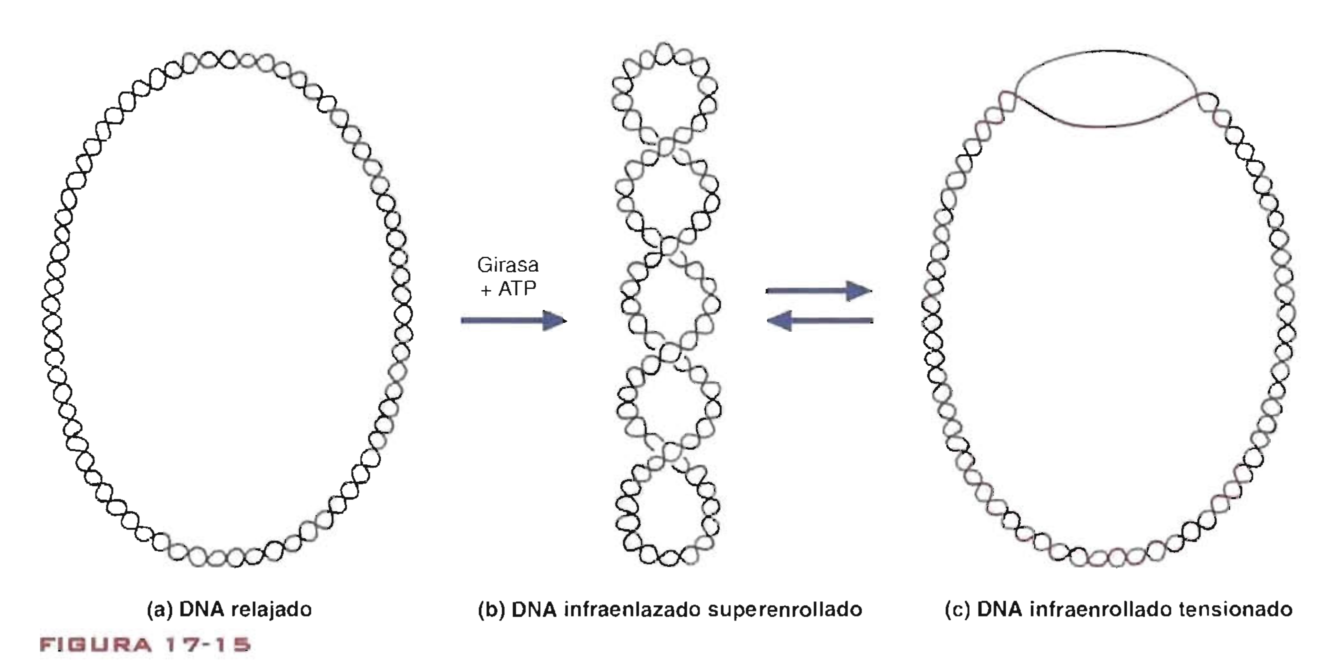


FIGURA 17-15

Efecto de la tensión sobre una molécula circular de DNA.

La rotura y la nueva formación de los enlaces fosfodiéster permiten la conversión de una forma circular relajada (a) en la forma superenrollada negativamente (b). El alivio de la tensión que produce el proceso de superenrollamiento se reintroduce cuando la molécula infraenrollada se fuerza a descansar en un plano (c).

propensión de determinadas secuencias de DNA para formar cruciformas y DNA H. La consideración del supeenrollamiento también se aplica a las moléculas lineales de DNA que se encuentran en los núcleos de las células eucariotas. Estas moléculas están constreñidas por sus uniones a los andamiajes nucleares, que son componentes estructurales de los cromosomas.

Cromosomas y cromatina

El DNA, que contiene los genes (las unidades de la herencia), está empaquetado en estructuras que se denominan cromosomas. Tal y como se definió originalmente, el término **cromosoma** sólo señalaba las estructuras densas teñidas de forma oscura que se veían en el interior de las células eucariotas durante la meiosis o la mitosis. Sin embargo, este término se utiliza también en la actualidad para describir a las moléculas de DNA de las células procariotas. La estructura física y la organización genética de los cromosomas procariotas y eucariotas son significativamente diferentes.

PROCARIOTAS En los procariotas como *E. coli*, un cromosoma es una molécula de DNA circular que está enlazada y enrollada de forma que puede comprimirse en un espacio relativamente pequeño (1 μm × 2 μm). Con todo, debe accederse de forma fácil a la información de esta molécula muy condensada. El cromosoma de *E. coli* (circunferencia = 1.6 μm) consta de un DNA superenrollado que forma un complejo con un centro proteico (Fig. 17-16).

En esta estructura, que se denomina nucleoide, el cromosoma está unido al centro proteico en al menos 40 lugares. Esta característica estructural produce una serie de bucles que limitan el desenrollamiento del DNA superenrollado si se introduce una rotura en la cadena. La compresión se potencia aún más empaquetando con HU,

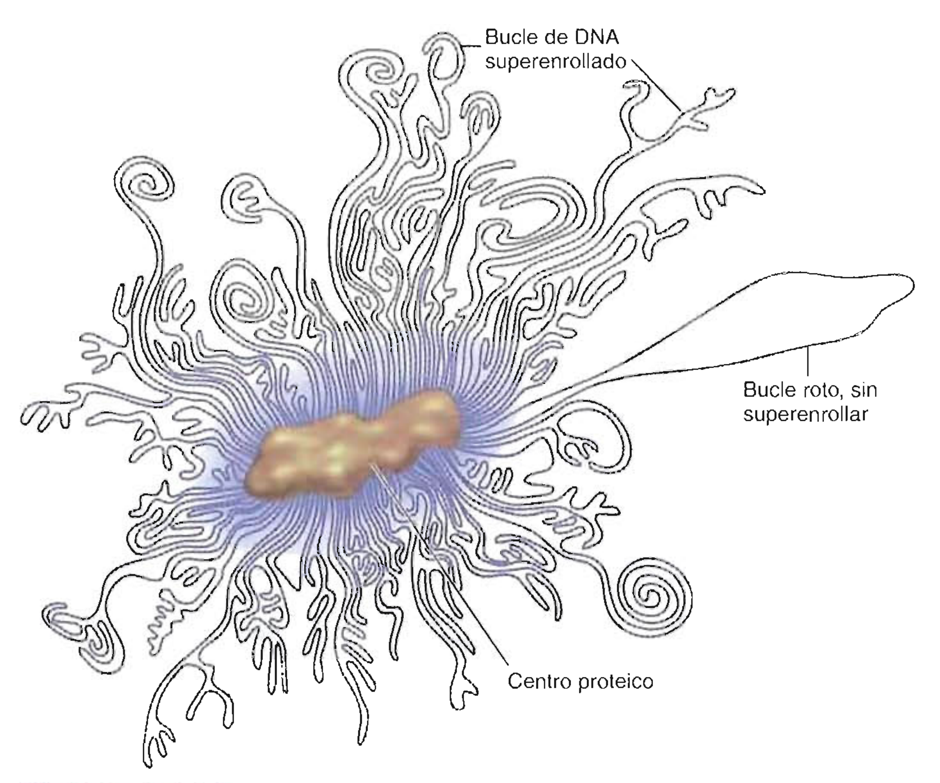


FIGURA 17-16
Cromosoma de *E. coli*.
El cromosoma circular de *E. coli* se encuentra formando un complejo con un núcleo proteico. Debido a que el cromosoma (3 x 10^6 pb) está superenrollado, el cromosoma completo sólo mide 2 μm. La unión de cada uno de los bucles al núcleo proteico puede impedir el desenmarañamiento del cromosoma completo superenrollado cuando se rompen las cadenas.

una proteína que se une al DNA procariota y facilita el doblamiento y el superenrollamiento. Alrededor de cada tetrámero HU se encuentran enrollados aproximadamente 60 pb.

Además, las poliaminas (moléculas policatiónicas como la espermidina y la espermina) ayudan también a conseguir la estructura muy comprimida del cromosoma.

$$H_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_2-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$$

Espermidina

$$H_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_2-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$$

Espermina

(Cuando las poliaminas cargadas positivamente se unen al esqueleto del DNA cargado negativamente evitan la repulsión de carga entre los ovillos adyacentes de DNA.)

EUCARIOTAS En comparación con los procariotas, los eucariotas poseen genomas que son extraordinariamente grandes. Dependiendo de las especies, los cromosomas de los eucariotas varían en longitud y número. Por ejemplo, el ser humano tiene 23 pares de cromosomas con un total de aproximadamente 3000 millones de pb. La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* tiene cuatro pares de cromosomas con 180 millones de pb, y el maíz (*Zea mays*) tiene 10 pares de cromosomas con un total de 6600 millones de pb.

Cada cromosoma eucariota consta de una única molecula lineal de DNA formando un complejo con histonas para componer las **nucleohistonas**. (El empaquetamiento del DNA también puede afectarse por cantidades pequeñas de proteínas no histonas, RNA y poliaminas.) Las histonas son un grupo de proteínas básicas pequeñas que se encuentran en todos los eucariotas. La unión de las histonas al DNA da lugar a la formación de **nucleosomas**, que son las unidades estructurales de los cromosomas eucariotas. Las histonas comprenden cinco clases principales (H1, H2A, H2B, H3 y H4) que tienen estructuras primarias asombrosamente semejantes en las especies eucariotas. Sin embargo, las histonas de especies diversas y diferentes fases del ciclo celular difieren en cuanto a las modificaciones químicas (p. ej., fosforilación, acetilación, metilación, ubiquinación y ADP-ribosilación). En la actualidad se está investigando el significado de estas modificaciones. Sin embargo, ya se conoce que una función fundamental de las modificaciones de las histonas es regular la accesibilidad del DNA a los **factores de transcripción**, proteínas que estimulan la transcripción de los genes cuando se unen a secuencias específicas del DNA. Cada cromosoma eucariota también posee dos elementos estructurales singulares: centrómeros y telómeros (véase la pág. 585). Un *centrómero* es una secuencia de DNA con abundante AT que se asocia con proteínas no histonas para formar el cinetocoro, que interacciona con las fibras del huso durante la división celular. Los *telómeros* son regiones repetitivas CCCA del DNA de los extremos de los cromosomas que retrasan la pérdida de secuencias codificadoras durante la replicación del DNA.

Cuando las células eucariotas no se están dividiendo, los cromosomas se descondensan parcialmente para formar **cromatina**. En las micrografías electrónicas, la cromatina tiene aspecto de cuentas. Cada una de estas «cuentas» es un nucleosoma, que está formado por un segmento de DNA superenrollado que forma un ovillo toroidal alrededor de un núcleo de ocho histonas (dos copias de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4. Véase la Fig. 17-17b). La organización del DNA alrededor de cada núcleo de histonas se produce mediante interacciones electrostáticas entre los residuos de arginina del núcleo de histonas y el esqueleto fosfodiéster del DNA. Aproximadamente 140 pb están en contacto con cada octámero de histonas. Un espaciador (o enlazador) adicional de 60 pb conecta los nucleosomas adyacentes (Fig. 17-17a). En cada nucleosoma se encuentra también una molécula de histona H1, aunque no está claro aún la localización exacta (Fig. 17-17c). La H1 se cree que facilita el enrollamiento de la fibra de cuentas en estructuras de orden superior.

Al compactarse la cromatina para formar los cromosomas, los nucleosomas se enrollan en una estructura de orden superior que se denomina *fibra de 30 nm*

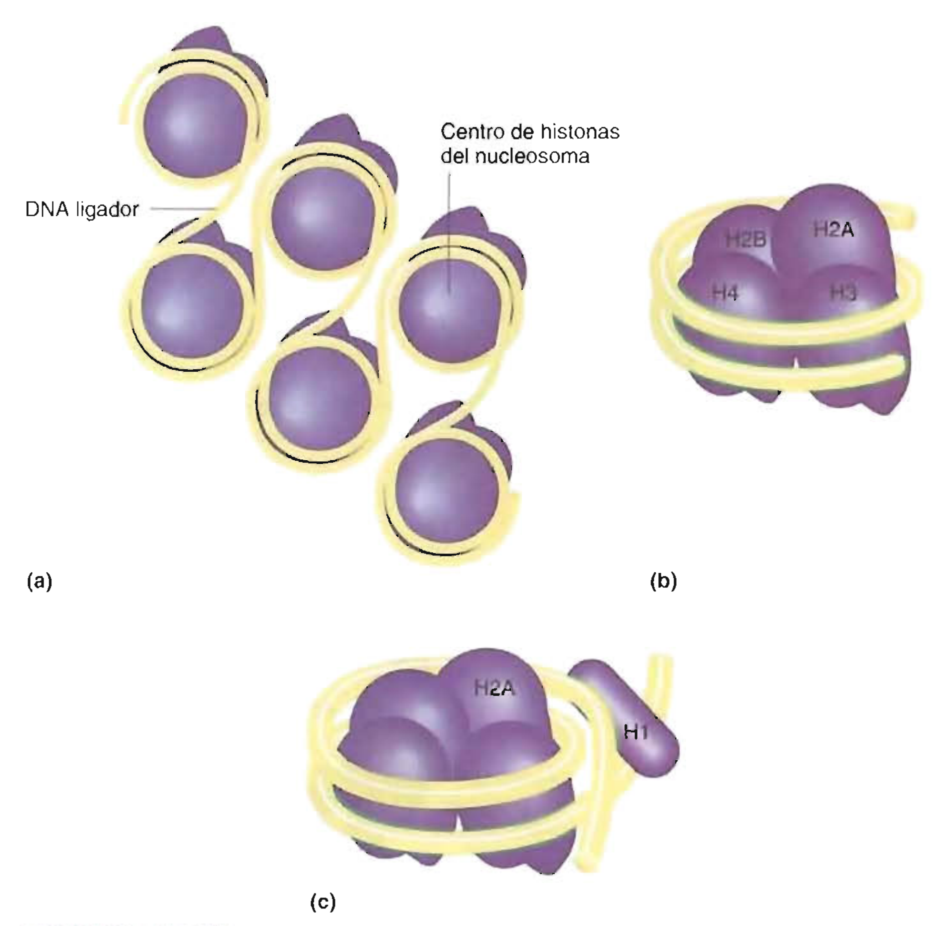


FIGURA 17-17

Cromatina y nucleosoma.

(a) Los nucleosomas están conectados por un DNA ligador. (b) Cada núcleo del nucleosoma está formado por un octámero de histonas, alrededor del cual está enrollado el DNA una vuelta y tres cuartos de vuelta. (c) Estructura propuesta para los nucleosomas. La histona H1 ayuda a estabilizar el enroscado del DNA alrededor del octámero de histonas. *Fuente*: (b) y (c) Tomado de Devlin, *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 1992. © 1992, Wiley-Liss. Reproducido con permiso de Wiley-Liss, Inc., subsidiaria de John Wiley-Liss & Sons, Inc.

CONCEPTOS CLAVE 17.4

Cada cromosoma procariota consta de una molécula de DNA circular superenrollada que forma un complejo con un núcleo proteico. Cada cromosoma eucariota consta de una molécula sencilla de DNA lineal que está formando un complejo con las histonas y que se denomina nucleohistona.

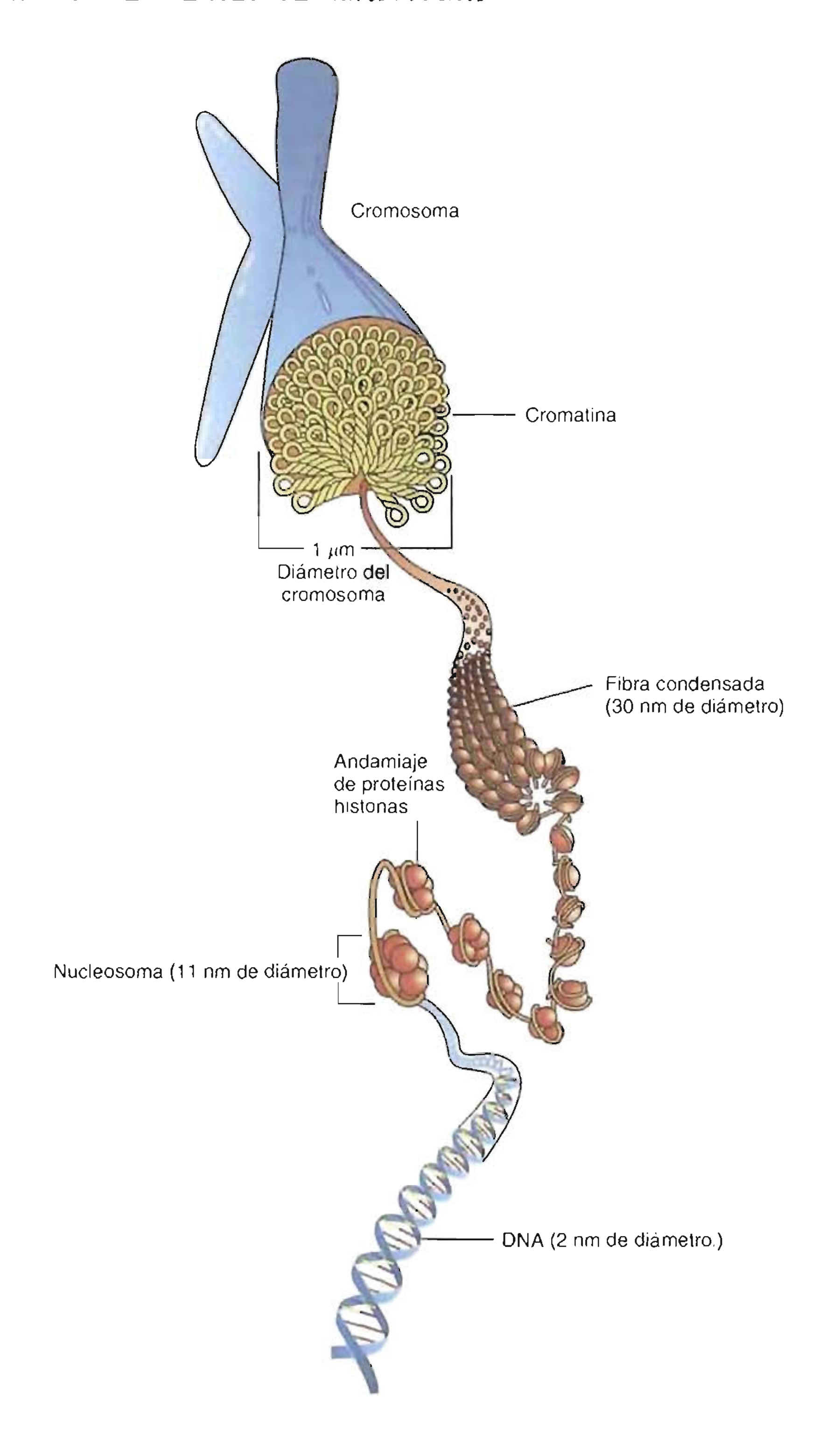
(Fig. 17-18). La fibra de 30 nm se enrolla aún más para formar *filamentos de 200 nm*. No está clara la estructura tridimensional de los filamentos de 200 nm pero se cree que contiene numerosos bucles superenrollados unidos a un complejo proteico central que se denomina andamiaje nuclear (Fig. 17-19). Aunque aún no se ha elucidado en su totalidad la organización estructural completa de los cromosomas eucariotas, es probable que contenga muchos niveles de superenrollamiento.

DNA DE LOS ORGÁNULOS Las mitocondrias y los cloroplastos son orgánulos semiautónomos, es decir, poseen DNA y su propia versión de la maquinaria de síntesis de proteínas. Estos orgánulos, que pueden reproducirse mediante fisión binaria, requieren también una contribución sustancial de proteínas y otras moléculas que están codificadas por el genoma nuclear. Por ejemplo, el DNA mitocondrial (mtDNA) codifica varias clases de RNA y determinadas proteínas de la membrana interna. El resto de las proteínas mitocondriales se sintetizan en el citoplasma y se transportan al interior de las mitocondrias. De forma semejante, el genoma de los cloroplastos codifica varias clases de RNA y determinadas proteínas, muchas de las cuales están asociadas directamente con la fotosíntesis. Las actividades de los geno-

FIGURA 17-18

Cromatina.

La cromatina nuclear contiene muchos niveles de estructura enrollada.



mas nucleares y de los orgánulos están muy coordinadas. Por consiguiente, con frecuencia son difíciles de discernir sus contribuciones individuales a la función del orgánulo. Debido a que las mitocondrias y los cloroplastos se cree que descienden de las bacterias de vida libre, no es sorprendente que sean susceptibles a las acciones de los antibióticos (p. ej., cloranfenicol y eritromicina) si sus concentraciones son suficientemente elevadas. Muchas de estas moléculas se usan (o se han utilizado) en la práctica clínica debido a que inhiben algún aspecto de la función del genoma bacteriano.

Compare las características estructurales que diferencian al DNA B del DNA A, DNA H y DNA Z. ¿Qué se conoce sobre las propiedades funcionales de estas variantes del DNA B, qué se denomina estructura de Watson-Crick?

PREGUNTA 17.7

¿Cuáles son los componentes proteicos principales de los cromosomas procariotas y eucariotas? ¿Cuáles son sus funciones? ¿Qué son las poliaminas y qué función desempeñan en la estructura del DNA?

PREGUNTA 17.8

Explique las relaciones jerárquicas entre los componentes siguiente: genomas, genes, nucleosomas, cromosomas y cromatina.

PREGUNTA 17.9

Describa las pruebas que utilizaron James Watson y Francis Crick para construir su modelo de la estructura del DNA.

PREGUNTA 17.10

Estructura del genoma

El genoma de cada ser vivo es el conjunto completo de instrucciones hereditarias que se requieren para mantener todos los procesos vivos, es decir, el sistema operativo del organismo. Los genomas se diferencian de tamaño, forma y complejidad de secuencia. El tamaño del genoma, el número de nucleótidos con apareamiento de bases, varía en un intervalo enorme desde menos de un millón de pb en algunas especies de *Mycoplasma* (la bacteria más pequeña que se conoce) a más de 10^{10} pb en determinadas plantas. En general, los genomas procariotas son más pequeños que los de los eucariotas. A diferencia de los genomas procariotas, que de forma característica constan de moléculas únicas de DNA circular, los genomas eucariotas están divididos en dos o más moléculas de DNA lineal. Sin embargo, la diferencia más significativa entre los genomas procariotas y eucariotas es la capacidad de codificación mucho mayor y la presencia de grandes cantidades de DNA no codificador de los eucariotas. Por esta razón, cada tipo de genoma se considerará separadamente. En la Figura 17-20 se comparan varios segmentos cortos de los genomas de varios eucariotas con el de *E. coli.*

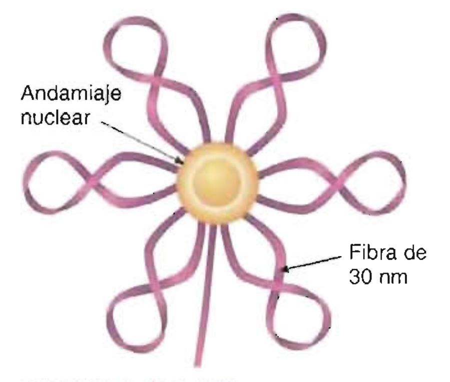


FIGURA 17-19
Cromatina.
En una estructura propuesta para el filamento de 200 nm, la fibra de 30 nm se enlaza y se une a un andamiaje nuclear formado por proteínas.

GENOMAS PROCARIOTAS Las investigaciones de los cromosomas procariotas, especialmente aquellos de varias cepas de *E. coli*, han descubierto lo siguiente:

1. **Tamaño del genoma.** Como se ha descrito, la mayoría de los genomas procariotas son relativamente pequeños, con un número de genes considerablemente menor que el de los eucariotas. El cromosoma de *E. coli* contiene unas 4.6 megabases (Mb) que codifican alrededor de 4300 genes. (Una Mb es 1×10^6 bases).
2. **Capacidad codificadora.** Los genes de los procariotas son compactos y continuos; es decir, contienen poco, si es que tienen algo, DNA no codificador entre las secuencias génicas o dentro de ellas. Esto contrasta con el DNA eucariota, en el que un porcentaje significativo del DNA puede encontrarse en una forma no codificadora.
3. **Expresión génica.** La regulación de muchos genes funcionalmente relacionados se potencia al organizarlos en operones. Un **operón** es un conjunto de genes ligados que están regulados como una unidad. Alrededor de una cuarta parte de los genes de *E coli* están organizados en operones.

Recuerde que los procariotas también suelen poseer pequeñas piezas adicionales de DNA (véase la pág. 37). Estas estructuras, que se denominan plásmidos, son normalmente circulares, aunque no siempre. Los plásmidos típicamente tienen genes que no están presentes en el cromosoma principal. Aunque estos genes normalmente no son esenciales para el crecimiento y la supervivencia de la bacteria, pueden codificar biomoléculas que proporcionan a la célula una ventaja de crecimiento o supervivencia. Entre los ejemplos se encuentran resistencia a los antibióticos, capacida-

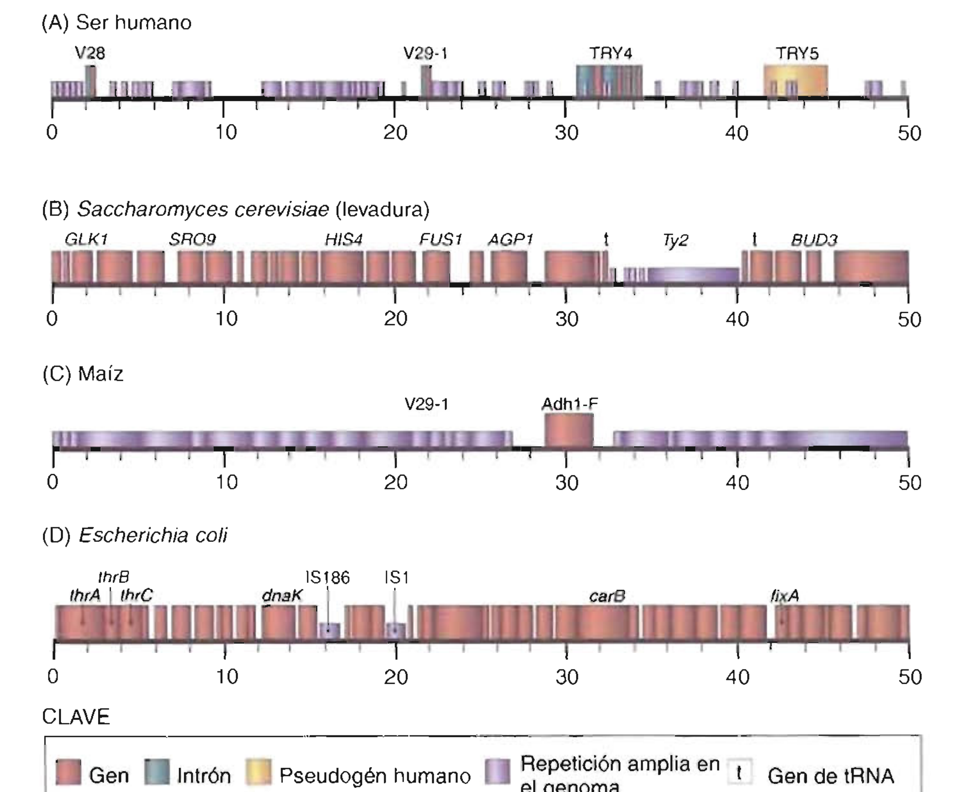


FIGURA 17-20

Comparación de segmentos de 50 kb de los genomas de algunos eucariotas con el genoma del procariota *E. coli*.

Como se indica, los genomas de los organismos como (a) el ser humano, (b) *Saccharomyces cerevisiae*, (c) maíz, y (d) *E. coli* pueden variar considerablemente en su complejidad y densidad de genes. Los genes están indicados por letras y/o números. Debe observarse que los eucariotas complejos como los seres humanos tienen genes que se interrumpen con secuencias como los intrones y las secuencias afuncionales denominadas pseudogenes, que se asemejan a los verdaderos genes. Obsérvese también que las bacterias tienen menos repeticiones repartidas por el genoma (segmentos repetitivos no codificadores), si es que tienen alguna.

des metabólicas singulares (p. ej., fijación de nitrógeno y degradación de fuentes de energía únicas como los compuestos aromáticos) o virulencia (p. ej., toxinas u otros factores que debilitan los mecanismos de defensa del hospedador).

GENOMAS EUCARIOTAS La organización de la información genética en los cromosomas eucariotas es mucho más compleja que la que se observa en los procariotas. Los genomas nucleares eucariotas poseen las características singulares siguientes:

1. **Tamaño del genoma.** Los genomas eucariotas tienden a ser sustancialmente más grandes que los de los procariotas. Sin embargo, en los eucariotas superiores, el tamaño del genoma no es necesariamente una medida de la complejidad del organismo. Por ejemplo, recuerde que el genoma haploide del ser humano tiene 3000 Mb. Los genomas de los guisantes y de la salamandra tienen 5000 Mb y 90 000 Mb, respectivamente. Por razones que aún se desconocen, algunas especies han acumulado cantidades importantes de DNA no codificador.

2. **Capacidad codificadora.** Aunque existe una enorme capacidad codificadora, la mayoría de las secuencias de DNA de los eucariotas no parecen tener funciones codificadoras, es decir, no tienen regiones reguladoras intactas que inicien la transcripción (la producción de transcritos de RNA). Se desconocen las funciones de estas secuencias no codificadoras; algunas de ellas tienen probablemente funciones reguladoras o estructurales. Se ha calculado que no más del 1.5 % del genoma humano codifica proteínas.

3. **Continuidad codificadora**. La mayoría de los genes eucariotas investigados hasta el momento son discontinuos. Las secuencias no codificadoras (que se denominan **intrones** o secuencias interpuestas) están entremezcladas entre las secuencias denominadas **exones** (secuencias que se expresan), que codifican un producto génico (cualquiera de las diversas moléculas de RNA, algunas de las cuales dictan la traducción de las proteínas). Las secuencias intrónicas se eliminan de los transcritos hnRNA por un mecanismo de corte y empalme (Sección 18.2) para producir moléculas funcionales de RNA.

Los cálculos recientes han señalado que aproximadamente el 45 % del genoma humano está formado por secuencias repetitivas (secuencias de nucleótidos repetidas). Aunque se desconoce su significado, se han identificado e investigado varias clases de secuencias repetitivas. Existen dos clases generales: repeticiones tándem y repeticiones entremezcladas ampliamente en el genoma. A continuación se describe brevemente cada una de ellas.

Las **repeticiones tándem** son secuencias de DNA en las que muchas copias están dispuestas cerca unas de otras. Estas secuencias se denominaron originalmente **DNA satélite** debido a que forman una banda separada o «satélite» cuando se fracciona en trozos el DNA genómico y se centrifuga para separar los fragmentos mediante centrifugación en gradiente de densidad (Métodos Bioquímicos 17.1). Las longitudes de las secuencias repetidas varían desde menos de 10 pb hasta más de 2000 pb. Las longitudes totales de las repeticiones tándem suelen variar entre 10^5 y 10^7 pb. Determinados tipos de repeticiones tándem desempeñan funciones estructurales en los **centrómeros** (las estructuras que unen los cromosomas al huso mitótico durante la mitosis y la meiosis) y los **telómeros** (las estructuras de los extremos de los cromosomas que contrarrestan la pérdida de secuencias codificadoras esenciales tras una ronda de replicación del DNA). Se denominan minisatélites y microsatélites a dos clases relativamente pequeñas de secuencias repetitivas. Los **minisatélites** tienen secuencias repetidas en tándem de unos 25 pb, con longitudes totales de entre 10^2 10^5 pb. En los **microsatélites** existe una secuencia central de 2 a 4 pb que se repite en tándem de 10 a 20 veces. Se desconocen en su mayor parte las funciones de estas secuencias repetitivas. Debido a su gran número en los genomas y a su naturaleza pleomórfica (es decir, varían con cada organismo individual), los minisatélites y los microsatélites se utilizan como marcadores en el diagnóstico de las enfermedades genéticas y en las investigaciones forenses (Recuadro de Interés Especial 17.1).

Como su nombre implica, las **repeticiones entremezcladas ampliamente en el genoma** son secuencias repetitivas que están dispersas por el genoma. La mayoría de estas secuencias son el resultado de una **transposición** (Sección 18.1), un mecanismo por el que determinadas secuencias de DNA pueden duplicarse y moverse dentro del genoma. Los **elementos transponibles del DNA**, que se denominan **transposomas**, se cortan a sí mismos y luego se insertan en otro lugar. Sin embargo, con mayor frecuencia, los mecanismos de transposición implican un RNA transcrito intermediario. Estos últimos elementos del DNA se denominan **transposones de RNA** o **retrotransposones**. El retrotransposón más abundantes en el ser humano es la *secuencia Alu*. Hay unas 500 000 copias de las secuencias Alu, cuyas longitudes son de unos 280 pb. No se conoce la función de las secuencias Alu y de otros retrotransposones. Se sospecha que son parásitos moleculares cuyo principal fin es su propia propagación.

CONCEPTOS CLAVE 17.5

En cada genoma de un organismo, la información que se requiere para dirigir los procesos vivos se organiza de forma que pueda almacenarse y utilizarse eficazmente. Los genomas de diferentes tipos de organismos se diferencian en su tamaño y niveles de complejidad.

PREGUNTA 17.11

Defina los siguientes términos:

a. repeticiones tándem
b. centrómero
c. DNA satélite
d. intrones
e. exones
f. microsatélites
g. transposición

PREGUNTA 17.12

Compare los tamaños y la capacidad codificadora de los genomas de los procariotas con los de los eucariotas. ¿Qué otras características los diferencian?

Métodos de los ácidos nucleicos I

Las técnicas que se utilizan para el aislamiento, la purificación y la caracterización de las biomoléculas aprovechan sus propiedades físicas y químicas. La mayoría de las técnicas que se emplean en la investigación sobre los ácidos nucleicos se fundamentan en las diferencias de peso molecular o de forma, secuencias de bases o apareamiento complementario de bases. Las técnicas como la cromatografía, la electroforesis y la ultracentrifugación, que se han utilizado con éxito en la investigación proteica, se han adaptado también para su uso con los ácidos nucleicos. Además, se han puesto a punto otras técnicas que explotan las características singulares de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, en determinadas circunstancias los dúplex de DNA se funden (separan) reversiblemente y se vuelven a alinear (se aparean la bases para formar de nuevo el dúplex). Una de las diversas técnicas que explotan este fenómeno, que se denomina *transferencia Southern*, suele emplearse para localizar secuencias específicas (y con frecuencia raras) de nucleótidos. Tras unas descripciones breves de diversas técnicas que se utilizan para purificar y caracterizar a los ácidos nucleicos, se bosquejan los métodos habituales para determinar las secuencias de DNA. En Métodos Bioquímicos 18.1 se describen las técnicas más complejas.

Una vez rotas las células bacterianas o aislados los núcleos eucariotas, se extraen sus ácidos nucleicos y se desproteinizan, lo cual puede llevarse a cabo mediante varios métodos. El ácido nucleico bacteriano suele precipitarse tratando las preparaciones celulares con álcali y lisozima (una enzima que degrada las paredes de las células bacterianas al romper los enlaces glucosídicos). Las proteínas parcialmente degradadas se extraen utilizando determinadas combinaciones de disolventes (p. ej., fenol y cloroformo). De igual manera, los núcleos eucariotas pueden tratarse con detergentes o disolventes para liberar sus ácidos nucleicos. Dependiendo del tipo de ácido nucleico que quiera aislarse, para eliminar la otra clase se utilizan enzimas específicas. Por ejemplo, la RNasa elimina el RNA de las preparaciones de ácidos nucleicos, dejando intacto el DNA. Éste se purifica posteriormente mediante centrifugación. Todas las muestras de ácidos nucleicos deben manejarse con cuidado. En primer lugar, los ácidos nucleicos son susceptibles a las acciones de un grupo de enzimas que se denominan nucleasas. Además de las enzimas de esta clase que se liberan durante la extracción celular, las nucleasas pueden introducirse del entorno, por ejemplo, las manos del experimentador. En segundo lugar, los ácidos nucleicos de peso molecular elevado, principalmente el DNA, son sensibles a las agresiones de cizallamiento. Los procedimientos de purificación, por lo tanto, deben ser suaves, aplicando las menores agresiones mecánicas posibles.

Técnicas adaptadas del uso con otras biomoléculas

Muchas de las técnicas que se utilizan en los procedimientos de purificación de proteínas se han adaptado también para su uso con los ácidos nucleicos. Por ejemplo, se han utilizado varios tipos de cromatografía (p. ej., intercambio iónico, filtración en geles y afinidad) en diversas fases de la purificación de los ácidos nucleicos y en el aislamiento de secuencias individuales de ácidos nucleicos. Debido a su rapidez, la HPLC ha sustituido a muchas técnicas cromatográficas de separación más lentas cuando se emplean muestras pequeñas.

Una clase de cromatografía en columna que utiliza un gel de fosfato cálcico que se denomina **hidroxiapatita** ha sido especialmente útil en la investigación de los ácidos nucleicos. La hidroxiapatita se une a las moléculas de ácido nucleico de doble cadena con mayor fuerza que a las moléculas de cadena sencilla, por lo que puede separarse de forma eficaz el DNA de doble cadena (dsDNA) del DNA de cadena sencilla (ssDNA), el RNA y las proteínas contaminantes eluyendo la columna con concentraciones crecientes de amortiguador fosfato. La utilización de las columnas de hidroxiapatita recientemente se ha sustituido en gran medida por una forma de cromatografía de afinidad en la que las moléculas de la matriz de la columna se han unido de forma covalente a la avidina, una pequeña proteína que se une específicamente a la biotina. Cuando un ssDNA se une a un ssDNA biotinilado, el dsDNA resultante se une a la columna, mientras que el resto de la muestra atraviesa la columna.

El movimiento de las moléculas de ácido nucleico en un campo eléctrico depende de su peso molecular y de su estructura tridimensional. Sin embargo, debido a que las moléculas de DNA suelen tener pesos moleculares relativamente grandes, su capacidad para penetrar algunas preparaciones de geles (p. ej., poliacrilamida) está limitada. Aunque las secuencias de DNA con menos de 500 pb pueden separarse mediante geles de poliacrilamida con tamaños de poro especialmente grandes, con las moléculas de DNA más grandes deben utilizarse geles más porosos. Los geles de agarosa, que están formados por un polisacárido entrecruzado, se utilizan para separar las moléculas de DNA con longitudes entre 500 pb y aproximadamente 150 kilobases (kb). Las secuencias más grandes se aíslan con una variación de la alectroforesis en gel de agarosa en la que se alternan dos campos eléctricos (perpendiculares uno al otro). Las moléculas de DNA se orientan cada vez que el campo eléctrico cambia, lo que da lugar a una separación muy eficaz y precisa de grupos heterogéneos de moléculas de DNA.

La centrifugación en gradiente de densidad (Métodos Bioquímicos 2.1) con cloruro de cesio (CsCl) se ha utilizado mucho en la investigación de los ácidos nucleicos. A velocidades elevadas, se establece un gradiente lineal de CsCl. Las mezclas de DNA, RNA y proteínas que migran a través de este gradiente se separan en bandas individuales en posiciones donde sus densidades son iguales a la densidad del CsCl. Las moléculas de DNA con contenidos elevados de guanina y citosina son más densas que las que tienen proporciones mayores de adenina y timina. Esta diferencia ayuda a separar las mezclas heterogéneas de fragmentos de DNA.

Técnicas que explotan las características estructurales singulares de los ácidos nucleicos

Diversas propiedades singulares de los ácidos nucleicos (p. ej., absorción de luz UV de longitudes de onda específicas y su tendencia a formar reversiblemente complejos de doble cadena) se explotan en la investigación de los ácidos nucleicos. A continuación se consideran brevemente varias aplicaciones de estas propiedades.

Las bases púricas y pirimidínicas absorben luz UV debido a sus estructuras aromáticas. A pH 7 esta absorción es especialmente fuerte a 260 nm. Sin embargo, cuando las bases nitrogenadas se incorporan en secuencias de polinucleótidos, varias fuerzas no covalentes impulsan interacciones cercanas entre ellas. Este **efecto hipocrómico** es una ayuda valiosa en los estudios de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, las variaciones de absorción se utilizan de forma habitual para detectar la rotura de la estructura de doble cadena del DNA o la rotura hidrolítica de las cadenas de polinucleótidos mediante enzimas.

Las fuerzas de unión que mantienen juntas las cadenas complementarias del DNA pueden romperse. Este proceso, que se denomina **desnaturalización** (Fig. 17A), se estimula por el calor, las concentraciones salinas bajas y los valores de pH extremos. (El calentamiento es el método más común de desnaturalización en las investigaciones de los ácidos nucleicos debido a que puede controlarse con facilidad.) Cuando se calienta lentamente una disolución de DNA, la absorción a 260 nm permanece constante hasta que se alcanza una temperatura

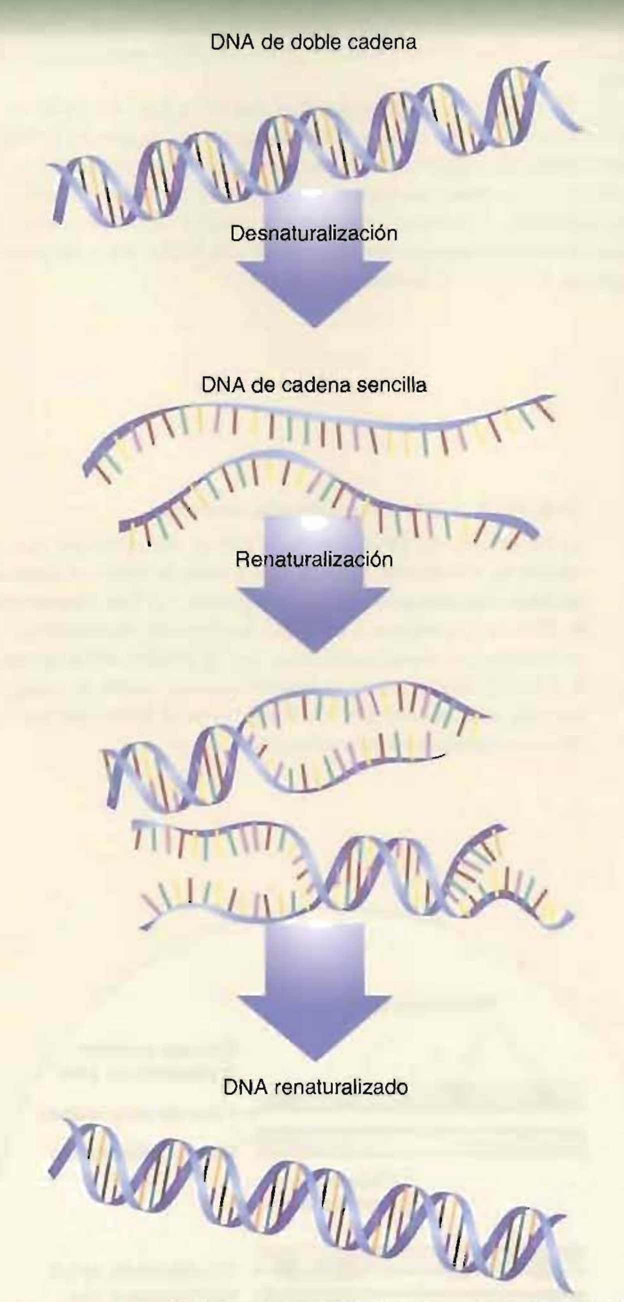


FIGURA 17A Desnaturalización y renaturalización del DNA.
En condiciones adecuadas, el DNA que se ha desnaturalizado puede renaturalizarse, esto es, las cadenas con secuencias complementarias vuelven a formar una doble hélice.

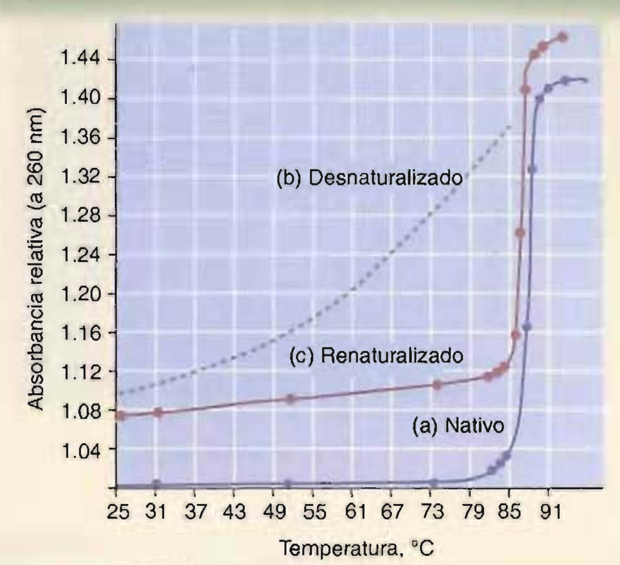


FIGURA 17B Desnaturalización del DNA.
(a) Cuando el DNA nativo se calienta, su absorbancia no cambia hasta que se alcanza una temperatura determinada. La «temperatura de fusión» T_m de una molécula de DNA varía con su composición de bases. (b) Cuando el DNA desnaturalizado se enfría, su absorbancia cae, pero a lo largo de una curva diferente. No vuelve a su valor de absorbancia original. (c) El DNA realineado (renaturalizado) puede prepararse manteniendo la temperatura 25 °C por debajo de la temperatura de desnaturalización durante un largo período de tiempo.

umbral. En este momento aumenta la absorbancia de la muestra (Fig. 17B). El cambio de absorbancia está producido por el desapilamiento de las bases y la rotura del apareamiento de bases. La temperatura a la que se desnaturaliza la mitad de la muestra de DNA, que se denomina temperatura de fusión (T_m), varía entre las moléculas de DNA de acuerdo con su composición de bases. [Recuerde que la estabilidad del DNA se afecta por el número de enlaces de hidrógeno entre los pares GC y AT y las interacciones de apilamiento de las bases. (Véase la pág. 566). Por lo tanto, para «fundir» las moléculas de DNA con un contenido elevado de G y C se requiere más energía.] Si las cadenas de DNA separadas se mantienen a una temperatura de aproximadamente 25 °C por debajo de la T_m durante un tiempo prolongado, la renaturalización es posible. La renaturalización, o realineamiento, requiere algún tiempo debido a que las cadenas exploran varias configuraciones hasta que alcanzan la más estable (es decir, las regiones complementarias apareadas).

La fusión del DNA es extraordinariamente útil en la **hibridación** de los ácidos nucleicos. Los DNA de cadena sencilla de diferentes procedencias se asocian («hibridan») si hay una homología significativa de secuencia (es decir, semejanzas estructurales). Si una muestra de DNA se fracciona en trozos pequeños uniformes, la velocidad de realineamiento depende de la concentración de cadenas de DNA y de las semejanzas estructurales entre ellas. Las velocidades de realineamiento han proporcionado una información valiosa sobre la estructura del genoma. Por ejemplo, los organismos varían en el número y tipos de secuencias únicas que contiene su genoma. (Una secuencia única sólo sucede una vez por genoma haploide.) El número relativo de secuencias únicas y repetidas puede determinarse construyendo una curva C_0t. (**C_0t** es una medida de la renaturalización en la que C_0 es la concentración de ssDNA en moles/litro y t es el tiempo transcurrido en segundos.) Las curvas C_0t han demostrado que la velocidad del realineamiento desciende al hacerse los genomas mayores y más complejos. En la Figura 17C se presenta la frecuencia de secuencias de DNA únicas y repetidas determinada midiendo las velocidades de realineamiento del genoma del ratón.

(continúa en la página 589)

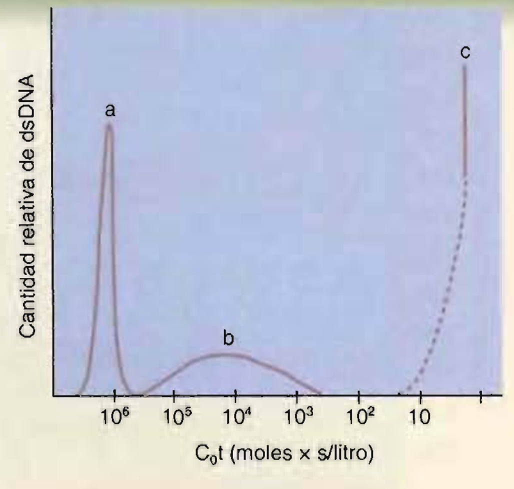


FIGURA 17C Patrón de la secuencia de DNA del genoma del ratón.

El grado de repetición de los segmentos del DNA total del ratón se determina midiendo los valores de C_0t de varias fracciones del genoma. La línea punteada señala los valores calculados. La cinética de reasociación de los genomas eucariotas generalmente descubre tres clases primarias de secuencias: secuencias repetitivas que se realinean rápidamente (a), secuencias de complejidad intermedia (b), y secuencias únicas que se realinean lentamente (c).

FIGURA 17D Transferencia Southern.

(1) El análisis del DNA comienza con su digestión por una enzima de restricción. (2) Los fragmentos de DNA se separan mediante electroforesis en gel de agarosa. (3) Los fragmentos de DNA se transfieren a un papel de filtro de nitrocelulosa en condiciones desnaturalizantes. (4) El ssDNA sobre el papel de filtro de nitrocelulosa se hibrida con una sonda de ssDNA marcada radiactivamente. (5) Puede verse el DNA que ha hibridado mediante autorradiografía.

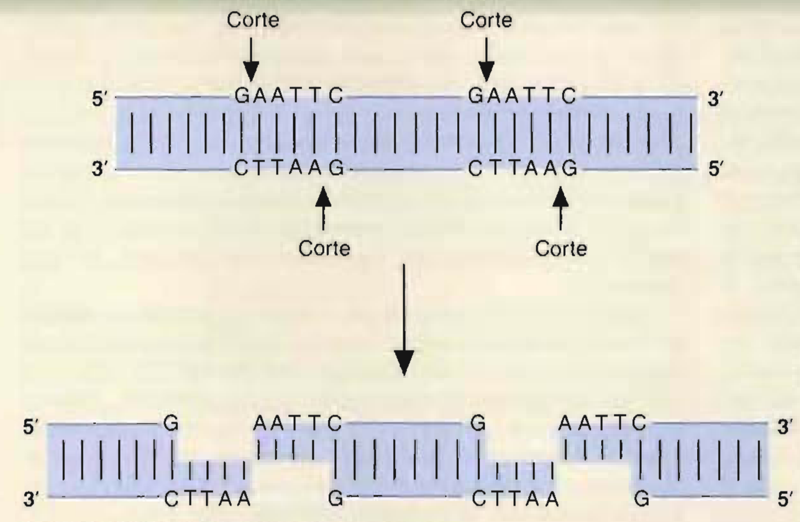


FIGURA 17E Enzimas de restricción.

Las endonucleasas de restricción son enzimas aisladas de bacterias que cortan el DNA en secuencias específicas. En este ejemplo, la enzima EcoRI (que se obtiene de *E. coli*) hace cortes escalonados que dan lugar a la formación de «extremos pegajosos». Algunas enzimas de restricción hacen «cortes romos».

La hibridación también puede utilizarse para situar y/o identificar genes específicos u otras secuencias de DNA. Por ejemplo, el ssDNA de dos procedencias diferentes (p. ej., células tumorales y células normales) puede estudiarse para comprobar diferencias de secuencia. Si se biotinila un conjunto de ssDNA, posteriormente los híbridos de doble cadena se unen a una columna de avidina. Si se encuentra presente alguna secuencia sin hibridar, atraviesa la columna y luego puede aislarse e identificarse. En la **transferencia Southern** (Fig. 17D) sondas de DNA o RNA (secuencias con identidades conocidas) marcadas radiactivamente localizan una secuencia complementaria en medio de un digerido de DNA, que típicamente contiene un gran número de fragmentos heterogéneos de DNA. Un digerido de DNA se obtiene tratando una muestra de DNA con enzimas de restricción que cortan en secuencias específicas de nucleótidos (Fig. 17E). (Las enzimas de restricción que producen las bacterias protegen a éstas frente a las infecciones víricas cortando el DNA del virus en secuencias específicas.) Una vez digerida la muestra de DNA, se separan los fragmentos mediante electroforesis en gel de agarosa de acuerdo con sus tamaños. Tras empapar el gel en NaOH 0.5 M, un proceso que convierte el dsDNA en ssDNA, los fragmentos de DNA se transfieren a un papel de filtro de nitrocelulosa colocándolos sobre una esponja húmeda en una bandeja con un amortiguador con concentración salina elevada. (La nitrocelulosa tiene la propiedad de unir fuertemente el ssDNA.) Se coloca papel de filtro seco absorbente en contacto directo con el sandwich filtro de nitrocelulosa/gel de agarosa. Al pasar el amortiguador a través del gel y del papel de filtro por capilaridad, se transfiere el DNA y queda unido de forma permanente al filtro de nitrocelulosa. (La transferencia del DNA al filtro es el «manchado» al que hace referencia el nombre de esta técnica: *blotting*.) A continuación se expone el filtro de nitrocelulosa a la sonda marcada radiactivamente, la cual se une a cualquier secuencia de ssDNA complementaria. Por ejemplo, un mRNA que codifique la β-globina se une específicamente al gen de la β-globina, aunque el mRNA de la β-globina carezca de los intrones presentes en el gen. Aparentemente, existe un apareamiento de bases suficiente entre las dos moléculas de cadena sencilla, de forma que el gen puede localizarse.

Secuenciación del DNA

La determinación de la secuencia de nucleótidos del DNA ha proporcionado datos valiosos en campos como la bioquímica, la medicina y la biología evolutiva. El análisis de las largas secuencias de DNA comienza con la formación de fragmentos menores utilizando una clase de enzimas de restricción. Posteriormente, cada fragmento se secuencia de forma independiente por el método de terminación de cadena. Igual que con las determinaciones de la estructura primaria de las proteínas, estos pasos se repiten con un conjunto distinto de fragmentos de polinucleótidos (que se generan mediante otra clase de enzimas de restricción) que solapen con el primer conjunto. La información de la secuencia de ambos conjuntos de experimentos ordena los fragmentos en la secuencia completa.

La secuenciación del DNA mediante el **método de terminación de cadena** (Fig. 17F), diseñado por Frederick Sanger, utiliza enzimas de restricción para romper grandes segmentos de DNA en fragmentos

(continúa en la página 590)

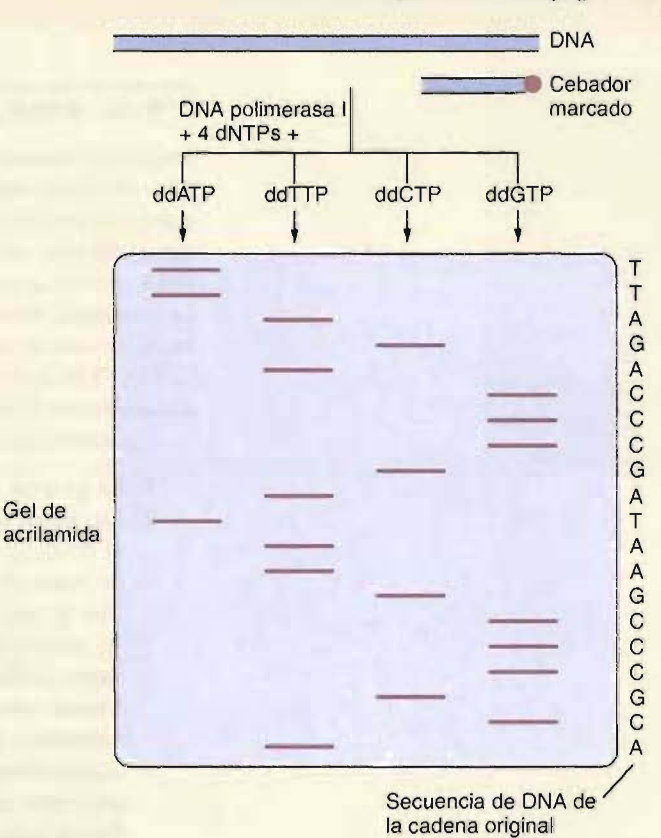


FIGURA 17F Método de Sanger de terminación de cadena. Se elige un cebador específico de forma que la síntesis de DNA comience en el punto de interés. La síntesis de DNA continua hasta que se incorpora un desoxinucleótido radiactivo y se termina la cadena. A continuación se separan mediante electroforesis en gel los productos de las reacciones y se analizan mediante autorradiografía. Los fragmentos migran de acuerdo con el tamaño. La secuencia se determina «leyendo» el gel.

más pequeños. Cada fragmento se separa en dos cadenas, una de las cuales se utiliza como molde para producir una copia complementaria. La muestra se divide posteriormente en cuatro tubos de ensayo. A cada tubo se añaden las sustancias que se requieren para la síntesis de DNA (p. ej., DNA polimerasa y los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato). Además, a cada tubo se añade un cebador (un segmento corto de una cadena de DNA complementaria) marcado con ^{32}P. (Seleccionando el cebador, el investigador puede comenzar la secuencia en lugares específicos.) También se encuentra presente en cada uno de los cuatro tubos un derivado 2′-3′-didesoxinucleótido diferente. (Los derivados didesoxi son análogos sintéticos de los nucleótidos en los que los grupos hidroxi de los carbonos 2′ y 3′ se han sustituido por hidrógenos.) Los didesoxinucleótidos pueden incorporarse a la cadena polinucleotídica creciente pero no pueden formar un enlace fosfodiéster con otro nucleótido. Como consecuencia de esto, cuando se incorpora un didesoxinucleótido, se termina la cadena. Debido a que se utilizan cantidades pequeñas de didesoxinucleótidos, se incorporan al azar en las cadenas crecientes de polinucleótidos. Por lo tanto, cada tubo contiene una mezcla de fragmentos de DNA con cadenas de diferente longitud. Cada cadena recién sintetizada acaba en un residuo de didesoxinucleótido. Los productos de reacción de cada tubo se separan mediante electroforesis en gel y se analizan juntos mediante autorradiografía. Cada banda del autorradiograma corresponde a un polinucleótido que se diferencia en un nucleótido menos del que le precede en cada una de las cuatro calles del autorradiograma. Observe que el polinucleótido más pequeño aparece en el fondo del gel debido a que se mueve más rápidamente que las moléculas más grandes.

Recientemente ha aparecido una versión automática del método de Sanger. En lugar de utilizar cebadores marcados radiactivamente, emplea didesoxinucleótidos marcados con fluorescencia. Debido a que cada análogo didesoxi tiene una fluorescencia diferente, el proceso completo puede realizarse en un único tubo de ensayo. Después se cargan los productos de la reacción y se corren en un único gel de electroforesis. Tras explorar el gel con un detector, un ordenador determina la secuencia de las bandas coloreadas (Fig. 17G).

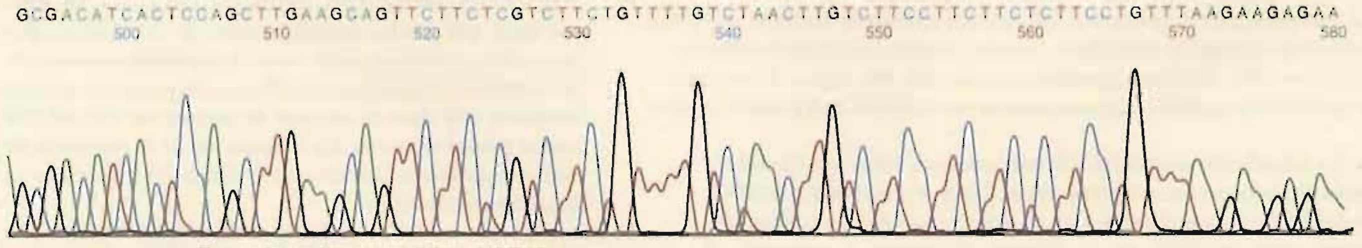


FIGURA 17G Secuenciación automática del DNA.
Utilizando marcadores fluorescentes en los didesoxinucleótidos, un detector puede explorar un gel rápidamente y determinar la secuencia a partir del orden de los colores de las bandas.

17.2. RNA

Los ácidos ribonucleicos son una clase de polinucleótidos que participan, casi todos ellos, en algún aspecto de la síntesis de proteínas. Las moléculas de RNA se sintetizan en un proceso que se denomina transcripción. Durante la transcripción se producen moléculas nuevas de RNA mediante un mecanismo semejante a la síntesis de DNA, esto es, a través de la formación de apareamientos de bases complementarias. La secuencia de bases del RNA está, por lo tanto, especificada por la secuencia de bases de una de las dos cadenas del DNA. Por ejemplo, la secuencia de DNA 5′-CCGATTACG-3′ se transcribe en la secuencia de RNA 3′-GGCUAAUGC-5′. (Las secuencias de DNA y RNA complementarias son antiparalelas.)

Las moléculas de RNA se diferencian de las de DNA en los siguientes aspectos:

1. La parte de azúcar del RNA es la ribosa en lugar de la desoxirribosa del DNA.
2. Las bases nitrogenadas del RNA se diferencian algo de las que se observan en el DNA. En lugar de timina, las moléculas de RNA utilizan uracilo. Además, las bases de algunas moléculas de RNA están modificadas por diversas enzimas (p. ej., metilasas, tiolasas y desaminasas).
3. Al contrario que la doble hélice del DNA, el RNA se encuentra como una única cadena. Por esta razón, el RNA puede enrollarse sobre sí mismo y formar estructuras tridimensionales singulares y con frecuencia bastante complejas (Fig. 17-21). La forma de estas estructuras está determinada por apareamiento de bases complementarias de secuencias específicas de RNA, así como por apilamiento de bases. Además, el 2′-OH de la ribosa puede formar enlaces de hidrógeno con grupos moleculares cercanos. Debido a que el RNA es de una sola cadena, no tienen aplicación las reglas de Chargaff.

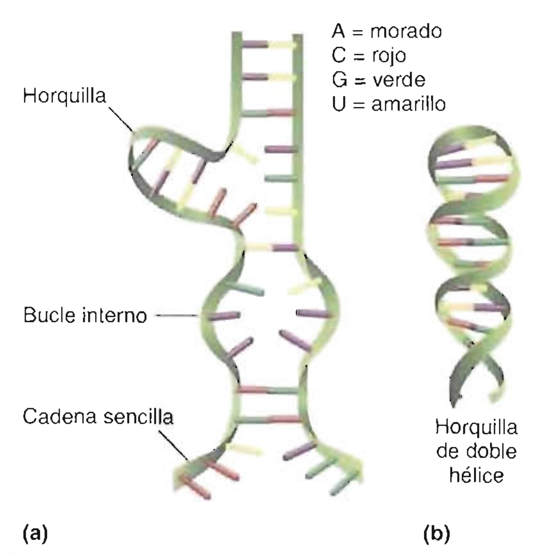


FIGURA 17-21

Estructura secundaria del RNA.

(a) En las moléculas de RNA se producen muchos tipos diferentes de estructuras secundarias. (b) Una estructura de horquilla.

Normalmente no es igual el contenido de A y U, así como el de C y G, de una molécula de RNA.

Las clases más destacadas de RNA son los RNA de transferencia, los RNA ribosómicos y los RNA mensajeros. A continuación se considera la estructura y la función de cada una de estas moléculas. Se describen también algunos ejemplos de otras clases menos abundantes de RNA (RNA heterogéneo y RNA nuclear pequeño).

RNA de transferencia

Las moléculas de **RNA de transferencia** (tRNA) transportan los aminoácidos a los ribosomas para su ensamblaje en las proteínas. Representan alrededor del 15 % del RNA celular y la longitud promedio de una molécula de tRNA es de 75 nucleótidos. Debido a que cada molécula de tRNA se une a un aminoácido específico, las células poseen al menos una clase de tRNA para cada uno de los 20 aminoácidos que se encuentran habitualmente en las proteínas. La estructura tridimensional de las moléculas de tRNA, que se asemeja a una hoja de trébol alabeada (Fig. 17-22), es consecuencia principalmente de un gran apareamiento de bases intracatenario. Las moléculas de tRNA contienen diversas bases modificadas. Entre ellas se encuentran pseudouridina, 4-tiouridina, 1-metilguanosina y dihidrouridina:

Ribosa	Ribosa	Ribosa	Ribosa
Pseudouridina	**4-Tiouridina**	**1-Metilguanosina**	**Dihidrouridina**

La estructura del tRNA le permite realizar dos funciones esenciales en las que intervienen los componentes estructurales más importantes: el 3′-terminal y el bucle del anticodón. El *3′-terminal* forma un enlace covalente con un aminoácido específico. El *bucle del anticodón* contiene una secuencia de tres pares de bases que es complementaria con el triplete del DNA que codifica el aminoácido específico. La

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 17.1. DNA antiguo... y DNA no tan antiguo

DNA antiguo

La biología evolutiva esencialmente es una ciencia histórica. Desde la publicación en 1859 del libro *Sobre el origen de las especies* de Charles Darwin, los biólogos han intentado reconstruir los acontecimientos y procesos que dieron lugar a los organismos actuales investigando los fósiles y la anatomía comparativa de las especies actuales. Los *fólises*, la parte que se conserva de los organismos antiguos, se han utilizado para trazar la ascendencia de los organismos actuales. Por ejemplo, los restos de esqueletos fosilizados han permitido a los paleontólogos trazar la ascendencia humana hasta hace tres millones de años. La mayoría de los fósiles se formaron cuando los organismos recién muertos quedaban expuestos a condiciones ambientales que disminuían el proceso de descomposición. Se cubrieron de sedimento (partículas finas del suelo suspendidas en agua) o quedaron embebidos en ciénagas, hoyos de alquitrán, ámbar (una resina polimerizada procedente de aceites esenciales de las plantas) o hielo. Las condiciones áridas del desierto también favorecieron la formación de fósiles.

Los estudios anatómicos comparativos han proporcionado abundante información referente a las relaciones de las especies actuales. Por ejemplo, considere que las estructuras semejantes de los miembros delanteros de la mayoría de los vertebrados sugieren unos antecedentes comunes para estas especies. Las especies con mayores semejanzas estructurales (p. ej., los seres humanos y los chimpancés) están más relacionadas que aquellas que tienen diferencias evidentes (p. ej., ballenas y pájaros) Sin embargo, al disponerse de técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos y proteínas, las estructuras de estas moléculas han proporcionado una información más precisa sobre las relaciones de las especies actuales. Por ejemplo, utilizando estudios de secuencias de DNA y proteínas, se han calculado las velocidades evolutivas moleculares detectando variaciones de las secuencias de bases del DNA o las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos de diferentes especies. Esta información, junto con las pruebas fósiles, se ha utilizado para hacer cálculos, que se han denominado *reloj evolutivo*, del tiempo que requieren los cambios evolutivos. Además, la información de las secuencias de DNA ha proporcionado un mecanismo muy prometedor para comparar las instrucciones genéticas de todas las especies que existen. Desafortunadamente, hay graves limitaciones sobre las conclusiones que los paleontólogos moleculares pueden inferir del estudio de las secuencias actuales de DNA, debido a que no pueden comprobar estas secuencias frente a los registros históricos. ¿O sí pueden hacerlo?

Aunque se han observado células nucleadas bien conservadas en especímenes desde 1912, la recuperación del DNA sólo ha sido posible en los años 1980. Las primeras extracciones con éxito de DNA antiguo (aDNA) aprovecharon la **clonación**, una técnica de DNA recombinante (Métodos Bioquímicos 18.1), en la que su utilizan bacterias para generar un gran número de copias de secuencias específicas de DNA. Estas secuencias se investigan posteriormente (mediante técnicas de secuenciación e hibridación) en términos de su relación con secuencias comparables de especies actuales. Por ejemplo, en 1984 se clonó con éxito el DNA de un cuaga (un animal extinguido que se parecía a los caballos y las cebras). Investigaciones posteriores del DNA del cuaga confirmaron su gran semejanza con el DNA de los caballos y las cebras.

La clonación del DNA representó un avance fundamental, pero su utilización es complicada cuando se aplica a especímenes fosilizados. La razón principal es que la clonación requiere cantidades más grandes de DNA de las que suelen encontrarse en los fósiles. (Ésta es una consideración importante debido a que los genes que interesan, como los que codifican las proteínas, generalmente sólo se encuentran en dos copias por célula.) Las investigaciones del aDNA parecían más evasivas que nunca en los primeros años 1980. Sin embargo, esta situación cambió radicalmente en 1985, cuando se dispuso de una nueva técnica denominada **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**. Utilizando PCR (Métodos Bioquímicos 18.1) pueden producirse en un tubo de ensayo hasta mil millones de copias de secuencias de DNA. Debido a que la PCR es extraordinariamente sensible (puede amplificarse una única molécula de DNA), parecía ser la más adecuada para los estudios del aDNA.

Desde que la PCR se ha aplicado a las investigaciones de aDNA, los paleontólogos moleculares han extraído fragmentos de DNA de una gran variedad de fósiles, artefactos y especímenes de museo. Por ejemplo, se han aislado secuencias de DNA de orígenes tan diferentes como los insectos embebidos en ámbar (con una antigüedad de unos 100 millones de años), especímenes fósiles de herbarios (de millones de años) y momias de Egipto (unos 6000 años de antigüedad). Las comparaciones de éstas y otras secuencias de DNA con las de las especies actuales han proporcionado una información importante con relación a las variaciones de las poblaciones y el tiempo transcurrido desde que las especies compartían un antepasado común (es decir, el reloj evolutivo).

Y DNA no tan antiguo

Las técnicas de identificación que se utilizan en las investigaciones del aDNA son semejantes a las que se emplean con las muestras de DNA de épocas más recientes. Estos métodos son especialmente valiosos en la medicina clínica diagnostica en las investigaciones forenses.

En la medicina clínica diagnóstica se ha aplicado la identificación del DNA a las investigaciones de los especímenes de tejido de los pacientes que se obtienen durante las biopsias o las autopsias. Debido a las adaptaciones imaginativas de las técnicas de extracción de DNA, puede investigarse el DNA de cortes de tejidos o tejidos conservados para obtener pruebas de enfermedades infecciosas o genéticas. Por ejemplo, la hibridación *in situ* de DNA es una técnica ultrasensible en la que se aplican sondas específicas de DNA directamente sobre tejidos embebidos en parafina. (Los especímenes de tejidos embebidos en parafina se emplean en los estudios microscópicos. Estos cortes

relación conformacional entre el 3′-terminal y el bucle del anticodón permite al tRNA alinear su aminoácido unido de forma adecuada durante la síntesis de proteínas. (Este proceso se presenta en el Capítulo 19.) El tRNA posee también otras tres características estructurales destacadas, que se denominan el bucle D, el bucle TΨC y el bucle variable. (Ψ es una abreviatura de la base modificada pseudouridina.) Se desconoce la función de estas estructuras, pero presumiblemente está relacionada con el alineamiento del tRNA dentro del ribosoma y/o la unión del tRNA a la enzima que cataliza la unión del aminoácido adecuado. El *bucle D* recibe este nombre debido a que contiene dihidrouridina. De forma semejante, el bucle TΨC contiene la secuencia de bases timina, pseudouridina y citosina. Los tRNA pueden clasificarse

pueden almacenarse de forma indefinida). Esta técnica ha confirmado recientemente la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en especímenes conservados obtenidos de estómagos de pacientes ulcerosos. (*H. pylori* se cree que es el agente causal de la mayoría de los casos de úlcera péptica, así como de cáncer de estómago.) La hibridación *in situ*, así como la PCR combinada con la transferencia Southern, han detectado secuencias víricas (p. ej., VIH) en especímenes conservados. (Éstas y otras pruebas bioquímicas indican que algunos pacientes murieron debido a una infección por el VIH al menos tan pronto como en los años 1950, aunque el SIDA no se detectó hasta 1981.)

El DNA persiste durante muchos años en especímenes biológicos secos (p. ej., sangre, saliva, pelo y semen) y en el hueso. Por consiguiente, el DNA puede utilizarse como prueba en cualquier tipo de investigación forense en la que se disponga de esos especímenes. Las técnicas de análisis de DNA que se utilizan habitualmente para verificar la identidad de las víctimas y/o los autores de crímenes violentos se denominan **tipado de DNA**, o perfil de DNA. El tipado de DNA requiere el análisis de varias secuencias muy variables que se denominan marcadores. Utilizando conjuntos de secuencias variables, los investigadores pueden proporcionar perfiles genéticos identificativos únicos para cada ser humano. En la década pasada el tipado de DNA ha proporcionado información decisiva con relación a la culpabilidad o inocencia en numerosos casos judiciales. Las técnicas de las que se dispone varían en su capacidad para diferenciar entre las personas, y en la velocidad con la que pueden obtenerse los resultados. Las **huellas de DNA**, que introdujo originalmente en 1985 el genetista británico Alec Jeffreys, es una variante de la transferencia Southern. En esta técnica, se comparan las características de las bandas de los minisatélites del DNA (véase la pág. 585) de diferentes personas, por ejemplo, especímenes de DNA del lugar del delito con los de los sospechosos (Fig. 17H). Cuando la cantidad de DNA que se extrae de la muestra del lugar del delito es demasiado pequeña para poder analizarlo, se amplifica por PCR. Por consiguiente, es suficiente el DNA de una única célula para un análisis de huellas de DNA. Se aísla el genoma completo de cada muestra y se trata con una enzima de restricción. Debido a las variaciones genéticas, las secuencias minisatélite de DNA se fragmentan de forma diferente. (Estas diferencias genéticas se denominan **polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción**, o **RFLP**.) Tras separar los fragmentos de restricción, de acuerdo con el tamaño, en electroforesis en gel de agarosa y transferirse a papel de filtro de nitrocelulosa, se exponen a sondas marcadas radiactivamente. Debido a que los tamaños de los fragmentos que se unen a estas sondas se diferencian de una persona a otra, se han utilizado con éxito los patrones de bandas para condenar o absolver a sospechosos.

Aunque los análisis de RFLP son un método exacto, tienen limitaciones. Entre ellas, las cantidades sustanciales de tiempo (6 a 8 semanas), el trabajo y la experiencia que se requieren para obtener los perfiles de DNA. Una metodología más nueva que analiza **repeticiones cortas en tándem (STR)** (secuencias de DNA con repeticiones de entre 2 y 4 pb, que se denominan microsatélites, véase la pág. 585) tiene un poder de discriminación significativamente mayor que los RFLP y es relativamente rápida (varias horas). Tras extraer el DNA de un espécimen, se amplifican mediante PCR varias secuencias diana STR y se ligan a moléculas de un colorante fluorescente. El **perfil de DNA**, que se produce cuando se separan los productos de la PCR en un gel electroforético, consta del patrón y del número de repeticiones de cada secuencia diana sobre el gel. La detección fluorescente incrementa la sensibilidad de la técnica. A diferencia de los RFLP, las técnicas de tipado de DNA que se basan en las STR pueden automatizarse fácilmente. Si se comparan los perfiles de DNA de muestras individuales y se determina que son idénticas, las muestras se dice que son compatibles. Si los perfiles que se comparan no son idénticos, se dice que proceden de orígenes diferentes. Los resultados se dan en términos de probabilidades de una compatibilidad aleatoria (la probabilidad de que una persona elegida al azar tenga un perfil de DNA idéntico al del espécimen de interés, como el dejado en el lugar del crimen). La utilización de varios marcadores y la sensibilidad de la metodología reducen la probabilidad de compatibilidad aleatoria hasta al menos 1 en varios miles de millones.

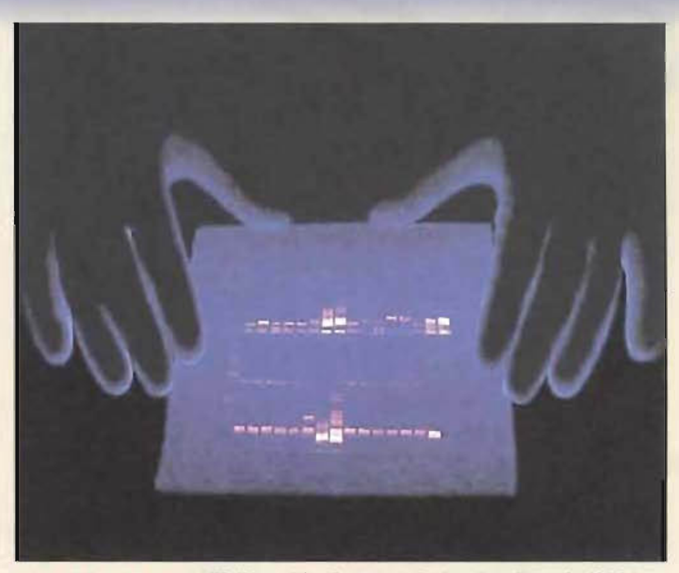


FIGURA 17H **Utilización forense de las huellas de DNA.** En muchos casos judiciales el análisis de los RFLP (polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción) de las pruebas biológicas recogidas en el lugar del delito proporciona una prueba concluyente de culpabilidad o inocencia.

de acuerdo con la longitud de su *bucle variable*. La mayoría (aproximadamente el 80 %) de los tRNA tienen bucles variables con 4 ó 5 nucleótidos, mientras que otros tienen bucles variables de hasta 20 nucleótidos.

RNA ribosómico

El **RNA ribosómico** (rRNA) es la forma más abundante de RNA en las células. (En la mayoría de las células, el rRNA constituye aproximadamente el 80% del RNA total.) La estructura secundaria del rRNA es extraordinariamente compleja (Fig. 17-23). Aunque existen diferencias entre las especies en las secuencias primarias de nucleóti-

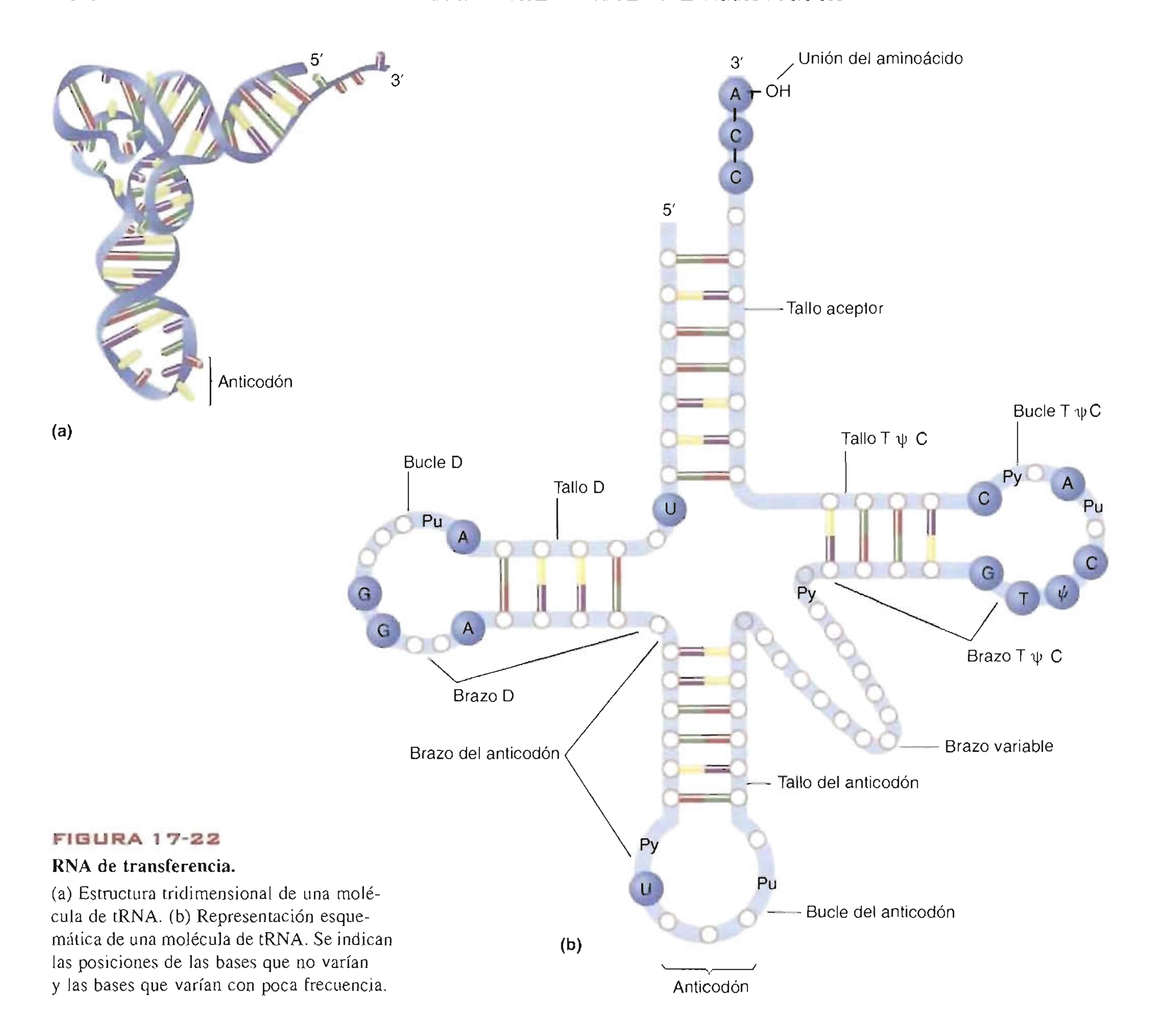


FIGURA 17-22

RNA de transferencia.

(a) Estructura tridimensional de una molécula de tRNA. (b) Representación esquemática de una molécula de tRNA. Se indican las posiciones de las bases que no varían y las bases que varían con poca frecuencia.

dos del rRNA, la estructura tridimensional global de esta clase de moléculas está conservada. Como sugiere su nombre, el rRNA es un componente de los ribosomas.

Como se ha descrito, los ribosomas son estructuras citoplásmicas que sintetizan las proteínas. (Debido a que están formados por proteínas y rRNA, los ribosomas se describen a veces como cuerpos ribonucleoproteicos.) Los ribosomas de los procariotas y los eucariotas tienen una forma y función semejantes, aunque se diferencian en tamaño y composición química. Ambos tipos de ribosomas constan de dos subunidades de tamaño desigual, que normalmente se denominan en términos de sus valores de S. (S es una abreviatura de la unidad de Svedberg (o sedimentación), que es una medida de la velocidad de sedimentación en una centrífuga. Debido a que la velocidad de sedimentación depende del peso molecular y de las forma de una partícula, los valores de S no son necesariamente aditivos.) Los ribosomas procariotas (70 S) están formados por una subunidad 50 S y una subunidad 30 S, mientras que los ribosomas de los eucariotas (80 S) contienen una subunidad 60 S y una unidad 40 S.

En cada tipo de subunidad ribosómica se encuentran varias clases diferentes de rRNA y proteínas. La subunidad ribosómica grande de *E. coli*, por ejemplo, contiene rRNA 5 S y 23 S y 34 polipéptidos. La subunidad ribosómica pequeña de *E. coli*

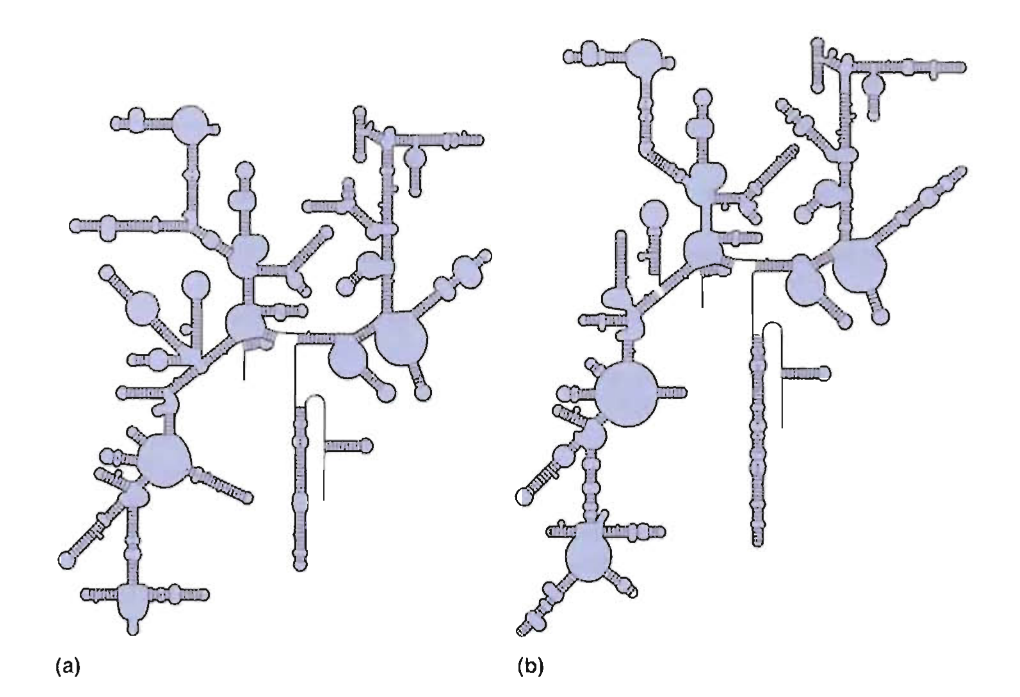


FIGURA 17-23
Estructura del rRNA.
Aunque difieren sus secuencias, la estructura tridimensional de estos rRNA 16S de (a) *E. coli* y (b) *Saccharomyces cerevisiae* (levadura) parecen notablemente semejantes.

contiene un rRNA 16 S y 21 polipéptidos. Una subunidad ribosómica eucariota grande típica contiene tres rRNA (5 S, 5.8 S y 28 S) y 49 polipéptidos; la subunidad pequeña contiene un rRNA 18 S y aproximadamente 30 polipéptidos. No se conocen bien y se están investigando las funciones de los rRNA y de los polipéptidos en los ribosomas.

RNA mensajero

Como su nombre sugiere, el **RNA mensajero** (mRNA) es el transportador de la información genética desde el DNA para la síntesis de proteínas. Las moléculas de mRNA, que constituyen aproximadamente el 5% del RNA celular, varian considerablemente de tamaño. Por ejemplo, los mRNA de *E. coli* varían desde 500 a 6000 nucleótidos.

El mRNA procariota y el mRNA eucariota se diferencian en varios aspectos. En primer lugar, muchos mRNA procariotas son *policistrónicos*, es decir, contienen información que codifica varias cadenas polipeptídicas. Por el contrario, el mRNA eucariota codifica un único polipéptido y por lo tanto se denomina *monocistrónico*. (Un **cistrón** es una secuencia de DNA que contiene la información que codifica un polipéptido y varias señales que se requieren para la función del ribosoma.) En segundo lugar, los mRNA procariotas y eucariotas se procesan de forma diferente. Al contrario que los mRNA procariotas, que se traducen a proteínas por los ribosomas mientras que se sintetizan o inmediatamente después, los mRNA eucariotas se modifican en gran medida. Estas modificaciones incluyen la formación de la caperuza (unión de una 7-metilguanosina al residuo 5'-terminal), el corte y empalme (eliminación de los intrones) y la unión de un polímero de adenilato que se denomina cola de poli A. (En el Capítulo 18 se describen cada uno de estos procesos.)

RNA heterogéneo y RNA nuclear pequeño

El RNA heterogéneo y el RNA nuclear pequeño desempeñan funciones complementarias en las células eucariotas. Las moléculas de **RNA nuclear heterogéneo** (hnRNA) son los transcritos primarios del DNA y los precursores del mRNA. Los hnRNA se procesan por corte y empalme y modificaciones para formar el mRNA. El **corte y empalme** es una eliminación enzimática de los intrones de los transcritos primarios. Una clase de moléculas de **RNA nuclear pequeño** (snRNA) (que contienen entre 90 y 300 nucleótidos), que se encuentran formando complejos con varias proteínas para formar **partículas ribonucleoproteicas nucleares pequeñas** (snRNP

CONCEPTOS CLAVE 17.6

El RNA es un ácido nucleico que participa en varios aspectos de la síntesis de proteínas. Las clases más abundantes de RNA son el RNA de transferencia, el RNA ribosómico y el RNA mensajero.

o *snurps*), participan en las actividades de corte y empalme, y otras formas de procesamiento del RNA.

PREGUNTA 17.13 ¿A qué clases de RNA se aplican los siguientes términos?

a. cola de poli A b. anticodón c. codón e. corte y empalme

PREGUNTA 17.14 Indique las cuatro bases que se encuentran habitualmente en el RNA.

PREGUNTA 17.15 Describa brevemente las funciones de cada clase principal de RNA.

PREGUNTA 17.16 Cuando se transcribe un gen, sólo una cadena de DNA actúa como molde para la síntesis de la molécula de RNA. Esta cadena se denomina **antisentido** (o no codificante); la cadena de DNA que no se transcribe se denomina cadena **con sentido** (o codificadora). La secuencia de bases de la cadena con sentido es la versión de DNA del mRNA que se utiliza para sintetizar el producto polipeptídico del gen. (La cadena del segmento de DNA que actúa como cadena con sentido se diferencia de un gen a otro.) Las investigaciones de este aspecto del metabolismo de los ácidos nucleicos ha descubierto que las bacterias y los virus utilizan la síntesis de los así llamados RNA antisentido para controlar determinados aspectos del metabolismo celular. Cuando se produce un RNA antisentido (por transcripción de la cadena de DNA antisentido), se une específicamente (a través de apareamiento complementario de bases) al mRNA correspondiente. Esta unión impide la síntesis del polipéptido a partir de mRNA.

Debido a que la unión mRNA-RNA antisentido es tan específica, las moléculas antisentido se consideran herramientas de investigación prometedoras. Numerosos investigadores están utilizando las moléculas de RNA antisentido para estudiar la función eucariota activando y desactivando de forma selectiva genes específicos. La denominada genética inversa es también útil en la investigación médica. Aunque se han encontrado problemas serios en la investigación antisentido (p. ej., la inserción ineficaz de los oligonucleótidos dentro de las células y los costes de fabricación elevados), la tecnología antisentido ha proporcionado ya un conocimiento valioso de los mecanismos de varias enfermedades (p. ej., cáncer e infecciones víricas).

Considere la siguientes secuencia de DNA con sentido:

5′-GCATTCGAATTGCAGACTCCTGCAATTCGGCAAT-3′

Determine la secuencia de su cadena complementaria. Luego determine las secuencias del mRNA y del RNA antisentido. (Recuerde que en la estructura del RNA, la T se cambia por U. Así, A en una cadena de DNA aparea con U al sintetizarse el RNA.)

17.3. VIRUS

Los virus carecen de la mayoría de las propiedades que diferencian a lo vivo de lo muerto. Por ejemplo, los virus no pueden realizar sus propias actividades metabólicas. Sin embargo, en condiciones adecuadas pueden causar estragos en los seres vivos. Los virus, que frecuentemente se describen como parásitos intracelulares estrictos, pueden también considerarse como elementos genéticos móviles debido a su estructura, es decir, cada uno de ellos consta de un trozo de ácido nucleico encerrado dentro de una cubierta protectora. Una vez que un virus ha infectado una célula hospedadora, su ácido nucleico puede secuestrar al ácido nucleico de la célula y a su maquinaria de síntesis de proteínas. Al acumularse los componentes del virus, se producen nuevas partículas víricas completas que luego libera la célula hospedadora. En muchas circunstancias, se produce tal cantidad de virus que la célula hospedadora se lisa (se rompe). Por otra parte, el ácido nucleico del virus puede insertarse en un cromosoma del hospedador, lo que da lugar a la transformación de la célula (Recuadro de Interés Especial 17.3).

Los virus han fascinado a los bioquímicos desde que se sospechó su existencia a finales del siglo XIX. Impulsada en gran medida por la actuación de los virus en numerosas enfermedades, la investigación vírica ha beneficiado enormemente a la bioquímica. Debido a que los virus subvierten la función celular normal para producir nuevos virus, una infección vírica puede proporcionar una visión única del metabolismo celular. Por ejemplo, la infección de las células animales ha proporcionado una información inestimable y relativamente inequívoca sobre los mecanismos que glucosilan a las proteínas recién sintetizadas. Además, se han elucidado diversos mecanismos genéticos eucariotas con la ayuda de los virus y/o de las enzimas víricas. La investigación vírica también ha proporcionado información sustancial con relación a la estructura del genoma y la carcinogenia (los mecanismos por los que las células normales se transforman en células cancerosas). Finalmente, los virus han sido inestimables en la creación de la tecnología del DNA recombinante.

Estructura de los virus

Desde 1892, en el que el investigador ruso Dmitri Ivanovski aisló por vez primera el virus del mosaico del tabaco, se han identificado un número enorme de virus. Debido a que no están claros sus orígenes y desarrollo evolutivo, la clasificación científica de los virus ha sido difícil. Con frecuencia, los virus se han asignado a grupos, de acuerdo con propiedades como su aspecto miscroscópico (p. ej., los rabdovirus tienen un aspecto con forma de bala), las estructuras anatómicas donde se aislaron por primera vez (p. ej., los adenovirus se descubrieron en las glándulas adenoideas, una clase de tejido linfoide), o los síntomas que producen en los organismos hospedadores (p. ej., los virus del herpes producen erupciones cutáneas que se diseminan). En los últimos años, los científicos han tratado de crear un sistema de clasificación sistemático basado principalmente en la estructura del virus, aunque otros factores son también importantes (p. ej., el hospedador y la enfermedad que producen).

Los virus se presentan en un conjunto desconcertante de tamaños y formas. Los viriones (partículas víricas completas) tienen un diámetro que oscila entre 10 nm a aproximadamente 400 nm. Aunque la mayoría de los virus son demasiado pequeños para poder verse con el microscopio óptico, unos pocos (p. ej., los virus eruptivos) pueden verse debido a que son tan grandes como las bacterias más pequeñas.

Los viriones simples están formados por una *cápside* (una cubierta proteica construida por moléculas proteicas entrelazadas denominadas capsómeros), que encierra al ácido nucleico. (El término *nucleocápside* suele utilizarse para describir el complejo formado por la cápside y el ácido nucleico.) La mayoría de las cápsides son helicoidales o icosaédricas. (Las cápsides icosaédricas son estructuras de 20 caras formadas por capsómeros triangulares.) El ácido nucleico componente de los viriones es DNA o RNA. Aunque la mayoría de los virus poseen DNA de doble cadena (dsDNA) o RNA de cadena sencilla (ssRNA), se han observado algunos genomas con DNA de cadena sencilla (ssDNA) y RNA de doble cadena (dsRNA). Existen dos clases de genomas ssRNA. Un genoma de RNA de *sentido positivo* [(+)ssRNA] actúa como un mRNA gigante, es decir, dirige la síntesis de un largo polipéptido que se rompe y procesa en moléculas más pequeñas. Un genoma de RNA de *sentido negativo* [(-)ssRNA] es complementario de la secuencia de bases que dirige la síntesis de las proteínas del virus. Los virus que utilizan genomas (-)ssRNA deben proporcionar una enzima, que se denomina transcriptasa inversa, que sintetiza el mRNA.

En los virus más complejos, la nucleocápside está rodeada por una cubierta membranosa, que normalmente procede de las membranas plasmática o nuclear de la célula hospedadora. Las proteínas de la cubierta, que codifica el genoma del virus, se insertan en la cubierta membranosa durante el ensamblaje del virión. Las proteínas que sobresalen de la superficie de la cubierta, que se denominan espículas, se cree que participan en la unión del virus a la célula hospedadora. En la Figura 17-24 se presentan algunos virus representativos.

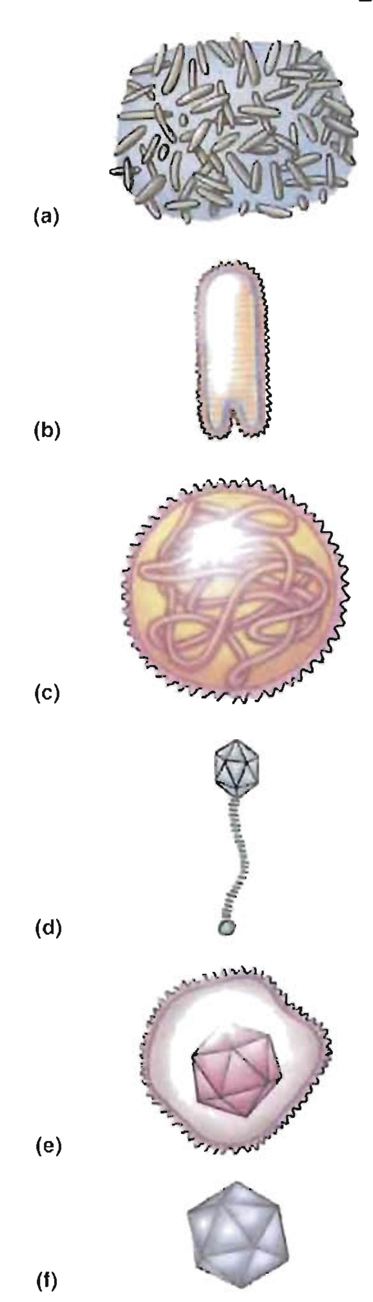


FIGURA 17-24
Virus representativos.
(a) Virus de la viruela, (b) rabdovirus, (c) virus de las paperas, (d) bacteriófago de cola flexible, (e) virus del herpes, (f) virus del papiloma (verruga).

CONCEPTOS CLAVE 17.7

Los virus están formados por un ácido nucleico encerrado en una cubierta protectora. El ácido nucleico puede ser DNA o RNA de cadena sencilla o de doble cadena. En los virus sencillos la cubierta protectora, que se denomina cápside, está formada por proteína. En los virus más complejos la nucleocápside formada por ácido nucleico y proteína está rodeada por una cubierta membranosa que procede de la membrana celular de la célula hospedadora.

Análisis filogenético y transferencia lateral de genes

La evolución es el mecanismo por el que con el tiempo las especies se separan al promover las variaciones genéticas aleatorias y la presión selectiva la adaptación a las condiciones ambientales. Tradicionalmente, las relaciones evolutivas se han trazado mediante comparaciones entre las especies de las características anatómicas globales de los organismos actuales. En las últimas décadas estas investigaciones se han ampliado a las comparaciones de las secuencias primarias de proteínas y ácidos nucleicos homólogos. Los primeros esfuerzos por establecer relaciones filogenéticas interpretando las secuencias moleculares se basaban en las secuencias de aminoácidos de proteínas como los citocromos. En los últimos años, los avances tecnológicos han hecho posible las comparaciones más directas de las secuencias de los ácidos nucleicos. Al recogerse y analizarse cantidades masivas de estos datos ha quedado claro que la evolución es conservadora y económica. En cierto sentido, cada ser vivo es un palimpsesto, es decir, los procesos de los seres vivos se construyen paso a paso sobre sistemas ya establecidos. (Un *palimpsesto* es una tableta o parche en el que se inscribe información, se borra en parte, y se vuelve a escribir.) Por consiguiente, los seres vivos son, en un sentido muy real, documentos históricos. En conjunto, ese trabajo ha confirmado las suposiciones de los científicos de que hay un antecesor común de las especies. Esta premisa se basa en las siguientes observaciones:

1. La naturaleza universal de los mecanismos básicos por los que se almacena y transmite la información genética.
2. Las semejanzas notables entre los procesos metabólicos esenciales en los organismos que existen en la actualidad (p. ej., en la generación de energía).
3. La casi universal quiralidad de las biomoléculas asimétricas (p. ej., azúcares D y aminoácidos L).

Al acumularse las pruebas sobre el origen común, se han utilizado para construir el «árbol de la vida» que ilustra las relaciones filogenéticas (aquellas basadas en la evolución) entre las especies actuales. Concebido originalmente por Charles Darwin, la ramificación irregular del árbol de la vida es una metáfora para la historia de las especies actuales. En la base del árbol se encuentra el antecesor universal a partir del cual descienden todos los organismos posteriores. Las ramas principales del árbol se separan a partir de los descendientes del antecesor universal (representado por el tronco central). Las separaciones sucesivas de cada rama significan los procesos evolutivos por medio de los cuales se han creado especies nuevas por las fuerzas de la selección natural. Cada punto de ramificación representa el último antecesor común a partir del cual descienden todas las especies representadas por la rama. En la punta de cada rama están las especies que existen actualmente.

Durante muchos años el árbol filogenético se ha creído que tenía dos ramas principales: procariotas y eucariotas. En gran parte como consecuencia de los trabajos de Carl Woese con las secuencias de rRNA, ha quedado claro que las relaciones entre las formas de vida que existen actualmente son más complejas de lo que implica el modelo de dos dominios. Las moléculas de RNA de las subunidades ribosómicas pequeñas son especialmente útiles para demostrar las relaciones filogenéticas debido a que:

1. Están codificadas por los genomas de todos los organismos.
2. Los organismos de las especies que ya se sabe están muy relacionadas tienen secuencias de rRNA semejantes; aquellas que son distantes tienen secuencias de rRNA diferentes.
3. Las moléculas de RNA ribosómico son mosaicos, es decir, determinadas secuencias de rRNA están muy conservadas entre las especies, mientras que otras son variables.

Por todas estas razones, las secuencias de rRNA pueden utilizarse para descubrir gradaciones sutiles en las relaciones evolutivas.

En 1977, basado en su evaluación de las secuencias de rRNA y otros datos, Woese propuso que las arqueobacterias correspondían a una rama propia del árbol de la vida, que ahora se denomina arquea (Fig. 17I). La comparación de los genomas de las especies de arqueas con

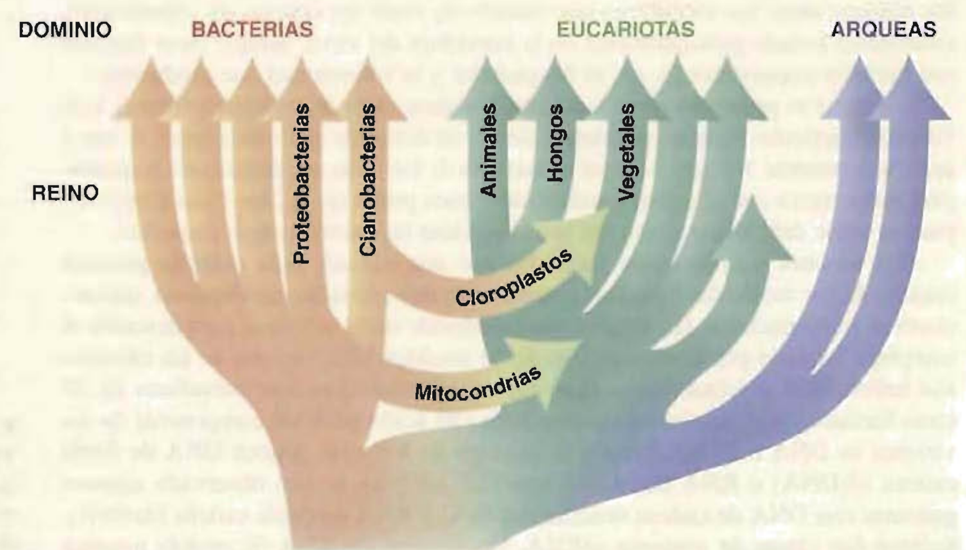


FIGURA 17I Modelo actual del árbol de la vida.
El diagrama simplificado, que ilustra las relaciones filogenéticas entre los organismos actuales, se basa en el grado de semejanza de las secuencias de RNA ribosómico. Los procesos endosimbióticos que han generado los cloroplastos y las mitocondrias se indican por las flechas diagonales superior e inferior.

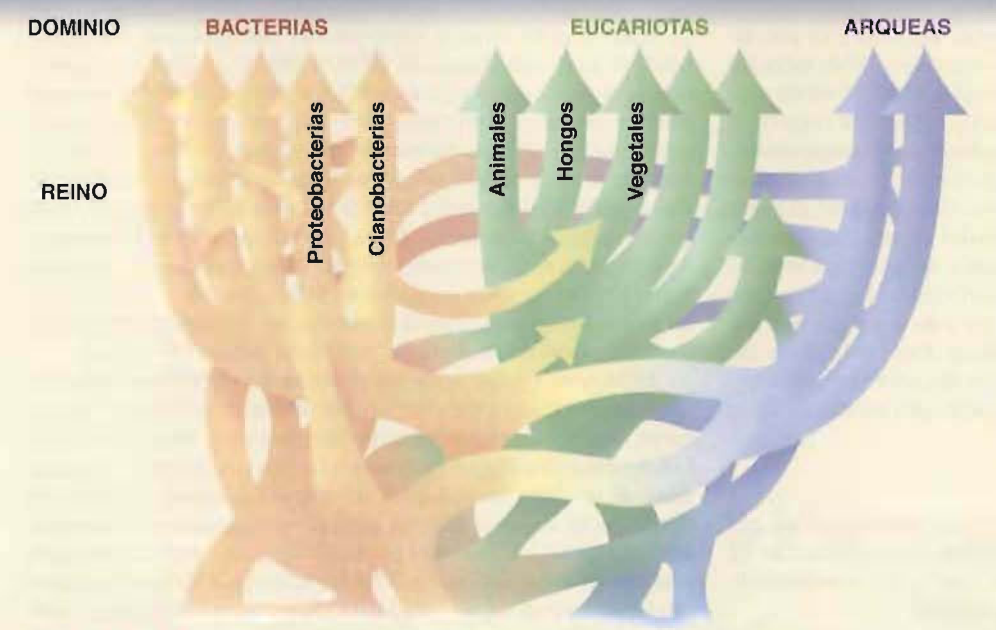


FIGURA 17J Árbol (o «red») de la vida modificado que se ha propuesto. Esta representación de la historia de la vida refleja el análisis de varios genes además de las secuencias de rRNA. Varios investigadores han sugerido que la transferencia lateral de genes (TLG) proporciona las pruebas de que la mayoría de los genomas de las arqueas y las bacterias contienen genes de varios orígenes. Obsérvese que, con la excepción de la transferencia endosimbiótica de las mitocondrias y los cloroplastos, la TLG no es un factor en la historia reciente de los eucariotas.

los de otros organismos ha descubierto que, en general, en algunos aspectos se asemejan a las eubacterias (p. ej., metabolismo y producción de energía) y a los eucariotas en otros (p. ej., replicación del DNA, transripción y traducción).

En sus intentos de utilizar las pruebas filogenéticas para retrotraerse desde los genomas de los organismos del modelo de tres dominios al genoma del antecesor universal, los científicos han encontrado obstáculos inesperados. Aunque la fiabilidad de los datos de rRNA en los que se basa el modelo de los tres dominios se ha comprobado hasta los linajes de determinados genes antiguos (p. ej., enzimas específicas asociadas a los ácidos nucleicos), las filogenias de otros genes indican que existen inconsistencias. En otras palabras, debido a que los distintos genes evolucionan a velocidades diferentes, los árboles filogenéticos que se basan en los linajes de otros genes no concuerdan totalmente con el árbol obtenido con los rRNA. Estas diferencias son especialmente notables cerca de las raíces del árbol, donde el antecesor universal comenzó a evolucionar a los organismos ancestrales a partir de los cuales descienden las especies actuales. En lugar de resolver las discrepancias, los datos genómicos recientes parecen haber aumentado la confusión.

De acuerdo con una de las hipótesis más destacadas lanzada para explicar las grandes semejanzas que se observan entre determinados genes dentro de los tres dominios está el concepto de transferencia lateral (u horizontal) de genes. A diferencia de la más familiar transferencia vertical de los genes que tiene lugar entre los padres y la progenie, la **transferencia lateral de genes** (TLG) implica la transferencia de los genes o los fragmentos de genes entre los organismos no relacionados. Al contrario que los mecanismos evolutivos más comunes (p. ej., duplicación génica seguida de mutaciones aleatorias), la TLG puede, en circunstancias adecuadas, mejorar rápidamente la capacidad de un organismo para explotar su entorno. Por ejemplo, la adquisición de un gen que codifica una enzima que degrada una molécula abundante de alimento proporciona una ventaja competitiva sustancial sobre aquellos organismos que carecen de ella. De acuerdo con el modelo estándar, la endosimbiosis (véase la pág. 54), el proceso por el cual las α-protobacterias y las cianobacterias invadieron o fueron consumidas por células hospedadoras más grandes para posteriormente llegar a ser los orgánulos eucariotas transductores de energía (mitocondrias y cloroplastos, respectivamente), es un ejemplo destacado de transferencia lateral de genes.

Otra visión que se está explorando en la actualidad propone que cada uno de los tres dominios emergió de forma independiente a partir de una comunidad de células primitivas que frecuentemente intercambiaban genes (Fig. 17J). Durante las primeras fases de la evolución celular, los genes, las proteínas y los procesos metabólicos eran todos relativamente primitivos. Al producirse la evolución y eliminarse el aporte de moléculas orgánicas preformadas (Recuadro de Interés Especial 2.2), la presión selectiva severa producida por la competencia por unos recursos limitados impulsó los mecanismos genéticos que en última instancia crearon moléculas y procesos más complicados.

Tras la divergencia de los tres dominios, muchos organismos, especialmente los eucariotas, eran lo suficientemente complejos para hacerse relativamente resistentes a la TLG. Aunque es menos evidente en los eucariotas, la TLG aparentemente todavía se produce. Por ejemplo, la susceptibilidad a determinados cánceres y enfermedades autoinmunitarias en los animales se ha ligado a causas víricas, bien por la transferencia con el virus de pequeños trozos de DNA, o bien por la rotura del DNA de la célula hospedadora por la integración del genoma del virus. En los procariotas, continúan produciéndose niveles significativos de TLG, como prueban la diseminación de los genes de resistencia a los antibióticos entre las especies actuales.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 17.3. «Formas de vida» de los virus

A pesar de la diversidad de las estructuras de los virus y de las clases de células hospedadoras que infectan, en el ciclo vital de todos los virus hay varios pasos básicos: infección (penetración del virión o de su ácido nucleico en la célula hospedadora), replicación (expresión del genoma del virus), maduración (ensamblaje de los componentes del virus en los viriones) y liberación (emisión de los nuevos viriones por la célula hospedadora). Cada clase de virus debe explotar alguna de las reacciones metabólicas normales de sus células hospedadoras para completar el ciclo vital debido a que los virus normalmente sólo poseen información genética suficiente para especificar la síntesis de sus propios componentes. Por esta razón, existen numerosas variaciones sobre estos pasos básicos. Este punto puede demostrarse comparando los ciclos vitales de dos virus muy estudiados: el bacteriófago T4 y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Bacteriófago T4

El bacteriófago T4 (Fig. 17K) es un virus grande con una cabeza icosaédrica y una cola larga y compleja semejante a la estructura de T2 (pág. 573). La cabeza contiene dsDNA y la cola se engancha a la célula hospedadora y la inyecta el DNA del virus.

El ciclo vital del T4 (Fig. 17L) comienza con la adsorción del virión a la superficie de una célula de *E. coli*. Debido a que la pared de la célula bacteriana es rígida, el virión completo no puede penetrar en el interior de la célula y en su lugar se inyecta el DNA flexionando y encogiendo el aparato de la cola. Una vez que ha entrado el DNA en la célula, el proceso infectivo se completa y comienza la fase siguiente (replicación).

A los 2 minutos de la inyección del DNA del fago T4 en una célula de *E. coli*, la síntesis del DNA se detiene, el RNA y las proteínas y comienza la síntesis del mRNA del fago. El mRNA del fago codifica la síntesis de proteínas de la cápside y parte de las enzimas que se requieren para la replicación del genoma del virus y el ensamblaje de los componentes del virión. Además, se sintetizan otras enzimas que debilitan la pared celular de la célula hospedadora, de forma que puedan liberarse nuevos fagos para nuevas rondas de infección. Aproximadamente 20 minutos después de ser inyectado el DNA del virus (vDNA), la célula hospedadora se lisa, llena de varios centenares de nuevos viriones. Tras la liberación, los viriones se enganchan a bacterias cercanas, iniciando de esta forma nuevas infecciones.

El bacteriófago que inicia este denominado **ciclo lítico** se denomina *virulento* debido a que destruye sus células hospedadoras. Sin embargo, muchos fagos no destruyen inicialmente a sus hospedadores. Los denominados fagos *temperados* o *lisogénicos* integran su genoma en el de la célula hospedadora. (El término **lisogenia** describe una condición en la que el genoma del fago se integra en el cromosoma del hospedador.) El genoma del virus integrado (que se denomina **profago**) se copia junto con el DNA del hospedador durante la división celular durante un tiempo indefinido. Ocasionalmente, los fagos lisogénicos pueden entrar en una fase *lítica*. Determinadas condiciones externas, como la luz UV o la radiación ionizante, activan al profago, el cual dirige la síntesis de nuevos viriones. Algunas veces, una célula bacteriana que se lisa libera unos pocos viriones que contienen parte del DNA bacteriano junto con el DNA del fago. Cuando un virión así infecta una nueva célula hospedadora, este DNA se introduce en el genoma del hospedador. Este proceso se denomina **transducción**.

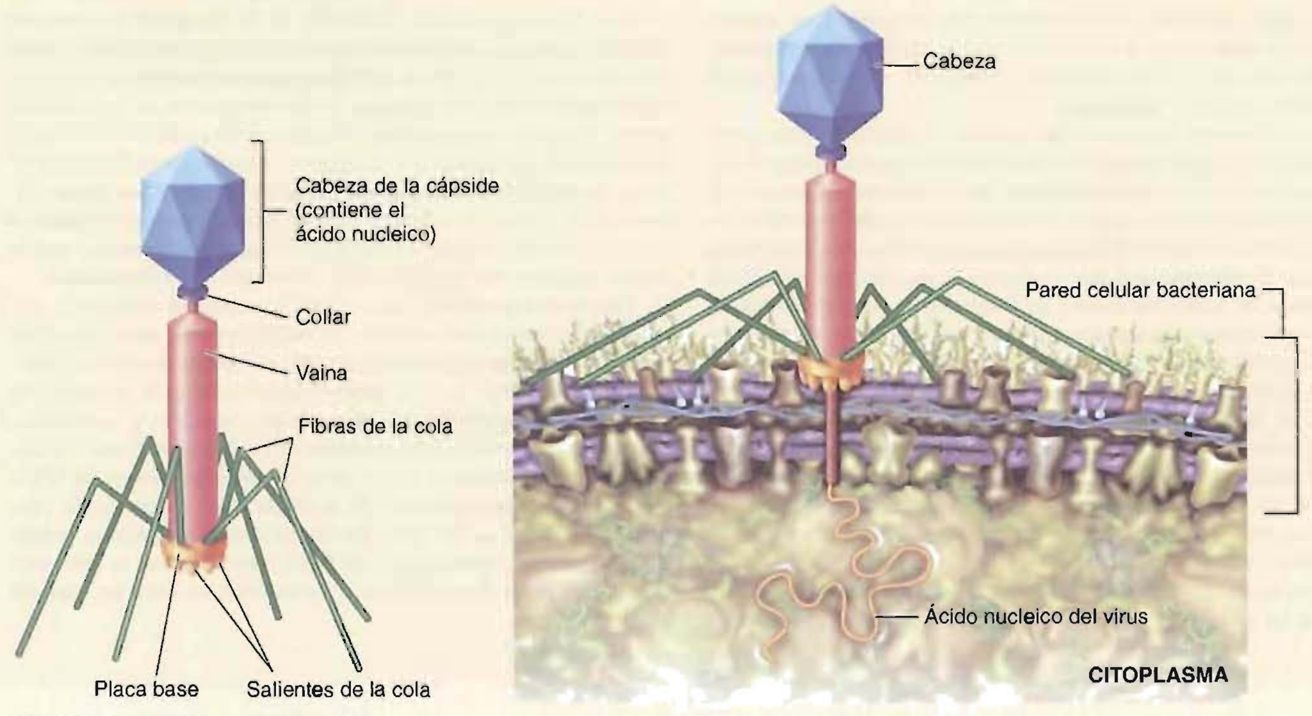


FIGURA 17K Bacteriófago T4.
(a) El genoma de DNA del bacteriófago T4 induce la síntesis por la célula hospedadora de unas 30 proteínas. (b) Penetración de la pared celular de la célula hospedadora por un bacteriófago.

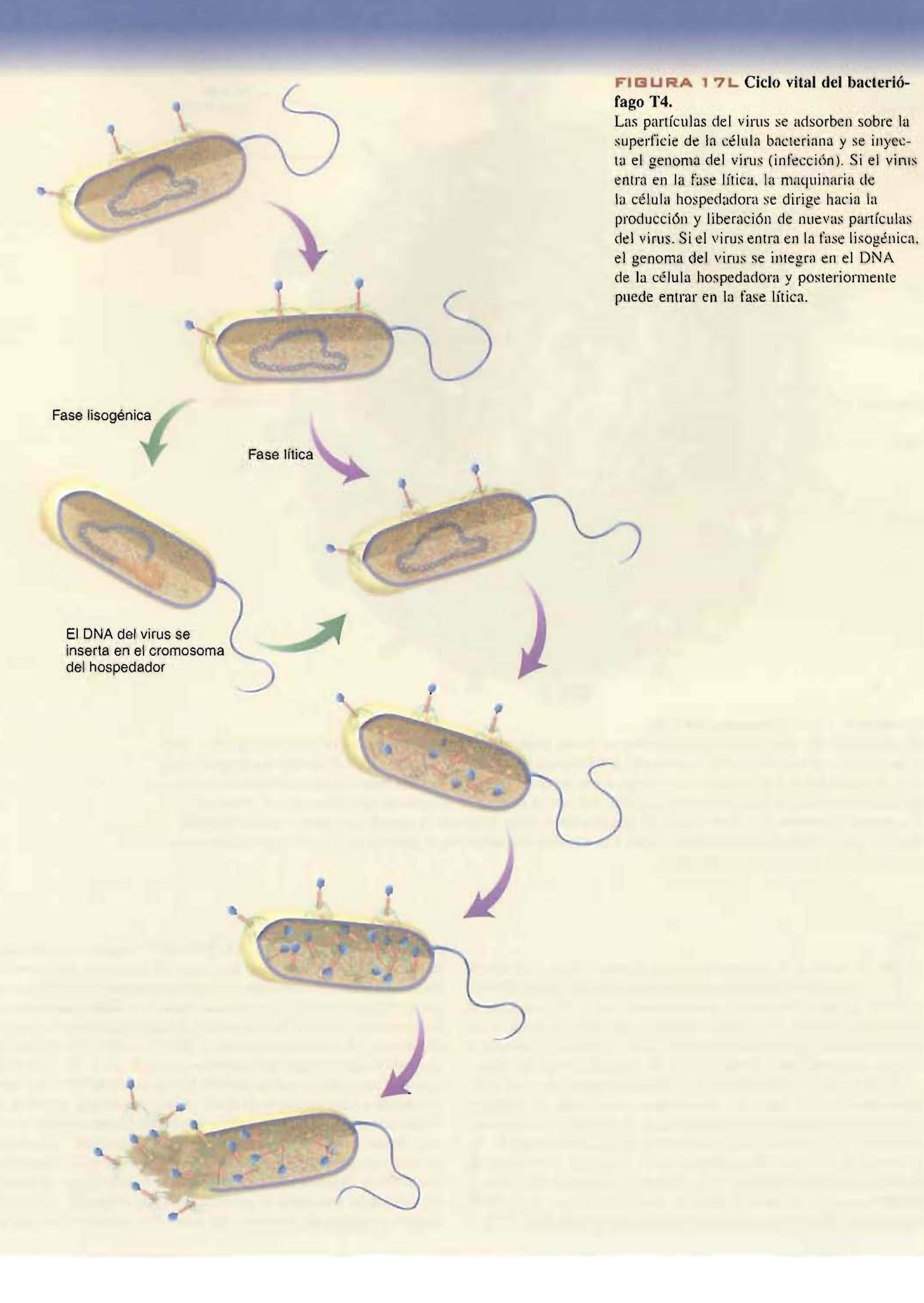


FIGURA 17L Ciclo vital del bacteriófago T4.
Las partículas del virus se adsorben sobre la superficie de la célula bacteriana y se inyecta el genoma del virus (infección). Si el virus entra en la fase lítica, la maquinaria de la célula hospedadora se dirige hacia la producción y liberación de nuevas partículas del virus. Si el virus entra en la fase lisogénica, el genoma del virus se integra en el DNA de la célula hospedadora y posteriormente puede entrar en la fase lítica.

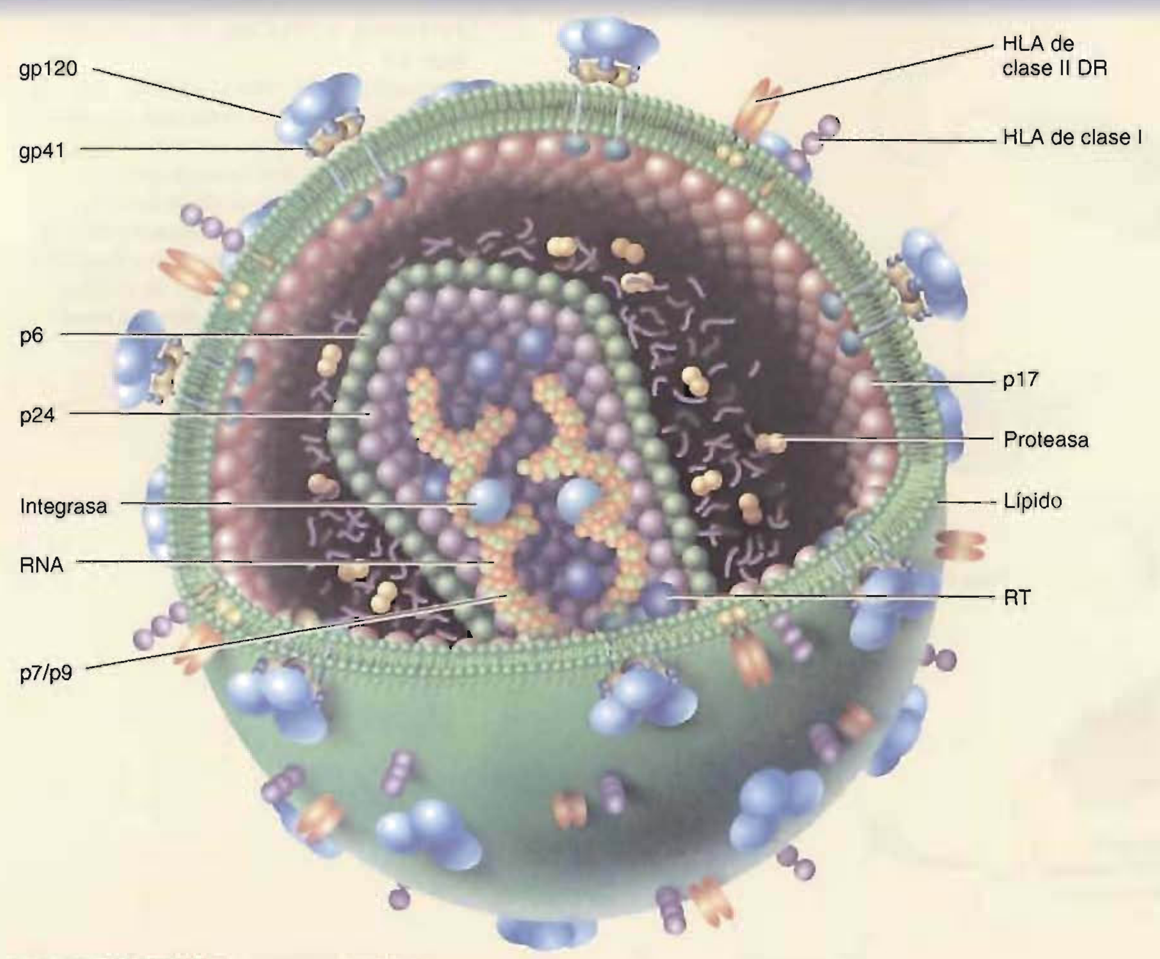


FIGURA 17M Estructura del VIH.
La superficie del virus es una bicapa lipídica en la que están embebidas las glucoproteínas del virus gp120 y gp41 y las proteínas de membrana HLA (antígenos leucocitarios humanos) que se han cogido de las células hospedadoras. (Las proteínas HLA son señales que protegen a esa partícula vírica del sistema inmunitario, que ordinariamente busca y destruye a los invasores extraños.) Recubriendo el interior de la cubierta hay centenares de copias de la proteína estructural p17. Dos copias del genoma RNA están dentro de la cápside con forma de bala formada por p6 y p24. Unidas al RNA están p7 y p9. Las enzimas asociadas con el genoma del virus son la transcriptasa inversa (TI), la integrasa y la proteasa.

VIH

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El SIDA es una enfermedad mortal debido a que el VIH destruye el sistema inmunitario del cuerpo, dejándolo sin defensas frente a los organismos que producen enfermedad (p. ej., bacterias, protozoos y hongos, así como otros virus), además de algunas formas de cáncer.

El VIH (Fig. 17M) pertenece a un grupo singular de virus RNA denominados retrovirus. Los **retrovirus** se denominan así debido a que contienen una actividad enzimática que se denomina transcriptasa inversa, la cual sintetiza una copia de DNA de un genoma ssRNA. Un retrovirus típico consta de un genoma RNA encerrado en una cápside proteica. Enrollado alrededor de la cápside se encuentra una cubierta membranosa que se forma a partir de la bicapa lipídica de la célula hospedadora. En el ciclo reproductor del retrovirus VIH (Fig. 17N), el proceso infeccioso comienza cuando el virus se une a una célula hospedadora. La unión, que tiene lugar entre la superficie glucoproteica del virus y los receptores específicos de la membrana plasmática, inicia un proceso de fusión entre la membrana de la célula hospedadora y la membrana del virus. Posteriormente, la cápside del virus se libera al citoplasma y la transcriptasa inversa del virus cataliza la síntesis de una cadena de DNA que es complementaria del RNA del virus. Esta actividad enzimática cataliza también la conversión del DNA de cadena sencilla en una molécula de doble cadena. La versión del DNA de doble cadena del genoma del virus se traslada posteriormente al núcleo, donde se integra en el cromosoma del hospedador. El genoma provírico integrado, que actúa como un profago, se replica cada vez que la célula sintetiza DNA. Los transcritos de mRNA que se producen cuando se transcribe el genoma del virus dirigen la síntesis de numerosas copias de proteínas del virus. Los nuevos virus, que se

crean como copias del genoma RNA del virus, se empaquetan con proteínas del virus y se liberan de la célula hospedadora por un proceso de «gemación».

El VIH contiene un núcleo cilíndrico dentro de su cápside. Además de dos copias de su genoma (+)-ssRNA, el núcleo contiene varias enzimas: transcriptasa inversa, ribonucleasa, integrasa y proteasa. Las moléculas de RNA están recubiertas con varias copias de dos proteínas de bajo peso molecular, p7 y p9. (Los números en los nombres de éstas y otras proteínas indican su masa en kilodalton; por ejemplo, p7 es una proteína con una masa de 7 kD.) El propio núcleo con forma de bala está formado por centenares de copias de p6 y las copias de p17 forman un recubrimiento interno de la cubierta del virus. La cubierta del VIH contiene dos proteínas víricas importantes, gp120 y gp41, además de las proteínas del hospedador.

La infección por el VIH se produce debido a la exposición directa del torrente sanguíneo de una persona a los líquidos corporales de una persona infectada. La mayoría del VIH se transmite mediante contacto sexual, transfusiones sanguíneas y transmisión perinatal de la madre al hijo. Una vez que el VIH ha entrado en el cuerpo, se cree que infecta a las células que portan el antígeno CD4 en sus membranas plasmáticas. El grupo principal de células que ataca el VIH son los linfocitos T-4 colaboradores del sistema inmunitario. Las células T-4 desempeñan una función esencial en la regulación de las actividades de otras células del sistema inmunitario. Se sabe que la infección de las células T requiere la interacción del complejo gp120-CD4 con un receptor de quimioquinas. (Las quimioquinas son agentes quimotácticos del sistema inmunitario. Estimulan la unión de las células T a los receptores sobre la membrana plasmática de la célula T.) En las primeras fases de la infección, el receptor CCR5 ayuda al VIH a entrar en las células. Posteriormente se utiliza el receptor CXCR4. (Las pruebas recientes sugieren que los seres humanos con dos copias de un gen defectuoso CCR5, una porción relativamente pequeña de la población, son resistentes a la infección por el VIH.) Otras células que se infectan por el VIH son algunas células intestinales y del sistema nervioso central.

Una vez que la proteína gp120 de la cubierta del VIH se une al antígeno CD4 y al receptor de quimioquinas en la célula T, la cubierta del virus se fusiona con la membrana plasmática de la célula hospedadora. Las dos cadenas de RNA se liberan al citoplasma. La transcriptasa inversa, un heterodímero con varias actividades enzimáticas, cataliza a continuación la síntesis de un ssDNA utilizando como molde el vRNA. La actividad RNasa heterodimérica degrada posteriormente el vRNA. La misma proteína produce un vDNA de doble cadena mediante la formación de una cadena complementaria del ssDNA del virus. La integrasa del virus integra el vDNA en el cromosoma de la célula hospedadora. El DNA provírico permanece latente hasta que la célula T infectada específica se activa por la respuesta inmunitaria. El DNA provírico puede a continuación dirigir la síntesis por la célula de componentes del virus. Los virus recién sintetizados brotan de la célula infectada.

La investigación reciente que utiliza microseries de DNA (Métodos Bioquímicos 18.1) ha proporcionado algunos detalles sobre los mecanismos moleculares por medio de los cuales el VIH destruye el funcionamiento de los linfocitos T-4. Controlando la expresión del mRNA de más de 6000 genes simultáneamente, los investigadores han causado la pista de las consecuencias de la infección por el VIH. Han observado que a los 30 minutos de la infección, se ha suprimido la expresión de alrededor de 500 genes celulares y 200 se han activado. En horas, el mRNA de la célula hospedadora se ha sustituido en gran medida por mRNA del virus. El virus ha desmantelado la capacidad de la célula para generar energía y reparar el daño del DNA que ha causado el virus.

La muerte celular se desencadena por varios mecanismos, entre los que se encuentran los siguientes:

1. La activación por el virus de los genes que inducen la **apoptosis** (muerte celular programada), un mecanismo celular normal mediante el cual las células responden a las señales externas como las que se producen durante los procesos del desarrollo.
2. El brote simultáneo de numerosas partículas víricas de la membrana celular puede desgarrar la membrana y producir pérdidas masivas que no pueden repararse.
3. La liberación masiva de virus recién formados por una célula, dirigida por el provirus, puede destruir tanto a la célula, que llega a desintegrarse.
4. La unión de moléculas de superficie gp120 a los receptores CD4 en las células normales cercanas conduce a la formación de masas celulares grandes multinucleadas afuncionales que se denominan *sincitios*.

La infección por el VIH progresa a través de varias fases, cuya longitud puede variar considerablemente de unas personas a otras. Los síntomas iniciales, que aparecen normalmente pronto tras la exposición inicial al virus y que duran varias semanas son fiebre, letargia, cefalea y otros trastornos neurológicos, diarrea y agrandamiento de los ganglios linfáticos. (Los anticuerpos frente al VIH se detectan durante este período.) La acentuación de estos síntomas, que recibe el nombre de complejo relacionado con el SIDA (CRS), a menudo pueden repetirse. Finalmente, el sistema inmunitario queda tan afectado que la persona se hace susceptible a enfermedades oportunistas graves y se dice que tiene SIDA. El tiempo que se requiere para la aparición del SIDA puede variar desde 2 años a 8 ó 10 años. Por razones desconocidas, unos pocos pacientes no presentan SIDA aun después de 15 años de la infección por el VIH. (Recientemente se ha sugerido que alguna de estas personas están infectadas con variantes atenuadas del VIH.) Algunas de las enfermedades más frecuentes relacionadas con el SIDA son la neumonía por *Pneumocystis carinii*, la meningitis criptocócica (inflamación de las membranas que recubren el encéfalo y la médula espinal), la toxoplasmosis (lesiones cerebrales, insuficiencia cardíaca y renal y anomalías fetales), infecciones por citomegalovirus (neumonía, insuficiencia renal y hepática y ceguera) y tuberculosis. La infección por el VIH está también asociada con varios tipos de cáncer, el más común de los cuales es un cáncer poco frecuente de la piel que se denomina sarcoma de Kaposi.

No existe cura para el SIDA. El tratamiento busca suprimir los síntomas (p. ej., antibióticos para las infecciones) y lentificar la reproducción del virus. Las tasas de mortalidad han disminuido desde 1995 debido a la introducción de un protocolo de tratamiento que se denomina terapia antirretrovírica muy activa (TARMA), que consiste en la combinación de fármacos de las categorías siguientes: (1) nucleósidos inhibidores de la transriptasa inversa (NITI) (p. ej., azidotimidina, que también se denomina zidovudina o AZT), (2) inhibidores no nuleotídicos de la transcriptasa inversa (INNTI) (p. ej., efavirenz) e inhibidores de la proteasa (p. ej., indinavir). Los NITI y INNTI inhiben la síntesis del vDNA que cataliza la transcriptasa inversa. Los inhibidores de la proteasa son una clase de fármacos que evitan el procesamiento de la proteína del virus que se requiere para el ensamblaje de los nuevos viriones.

Debido a que el genoma del virus muta con frecuencia (es decir, sus antígenos de superficie se alteran), la obtención de una vacuna para el SIDA es problemática.

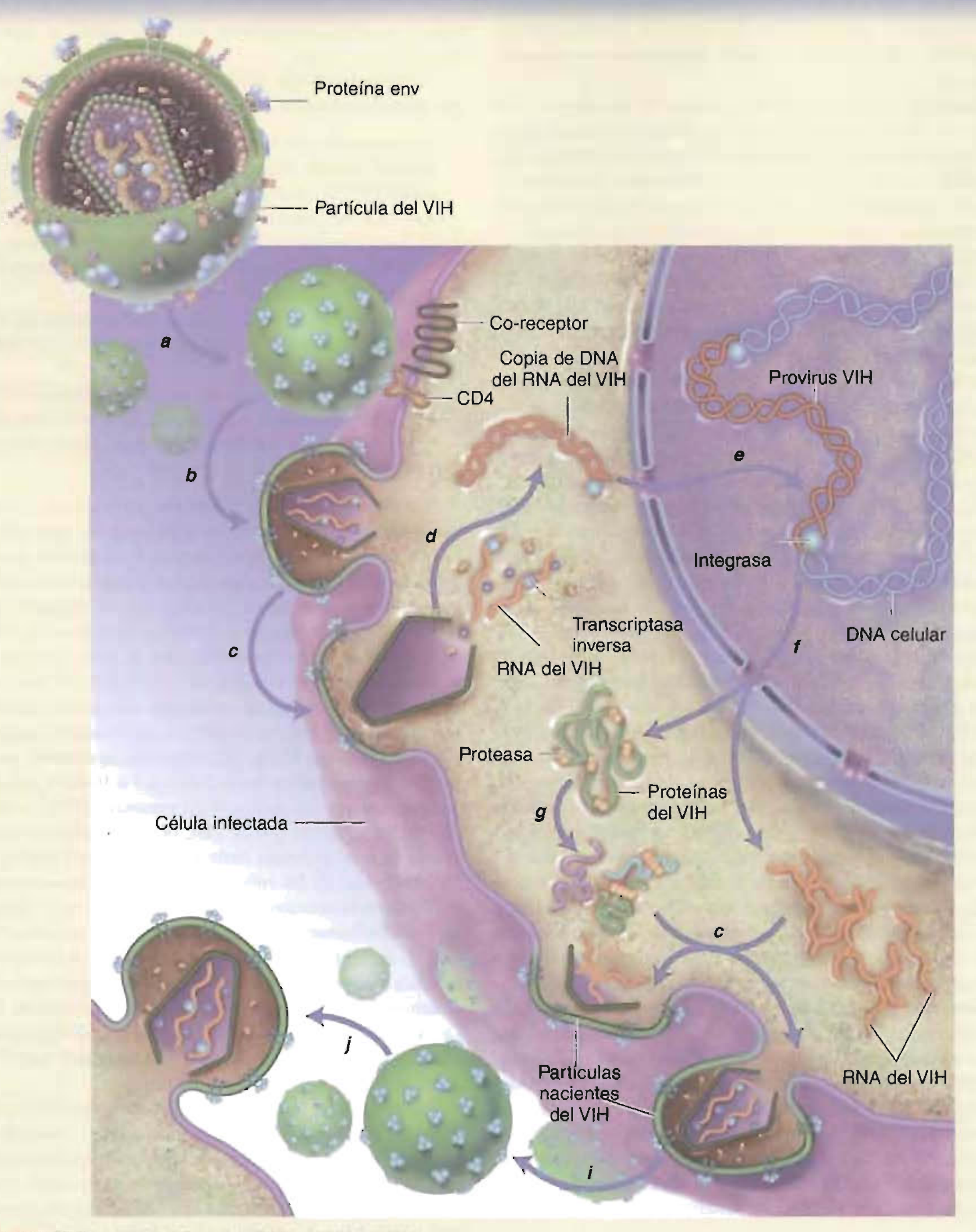


FIGURA 17N Ciclo reproductor del VIH, un retrovirus.
Tras unirse la partícula del virus a los receptores de superficie sobre la célula hospedadora (a), su cubierta se funde con la membrana plasmática de la célula (b), liberando así la cápside y su contenido [RNA del virus (vRNA) y varias enzimas del virus] al citoplasma (c). La enzima del virus transcriptasa inversa cataliza la síntesis de una cadena de DNA complementaria con el vRNA (d), y luego procede a formar una segunda cadena de DNA que es complementaria de la primera. A continuación, el DNA de doble hélice del virus (vDNA) se transfiere al núcleo, donde se integra a sí mismo en un cromosoma del hospedador con la ayuda de la integrasa del virus (e). El provirus (el genoma vírico integrado) se replica cada vez que la célula sintetiza un nuevo DNA. La transcripción del DNA del virus da lugar a la formación de dos copias de transcritos de RNA: moléculas de RNA que actúan como el genoma vírico (f) y moléculas que codifican la síntesis de proteínas del virus (p. ej., transriptasa inversa, proteínas de la cápside, proteínas de la cubierta e integrasa del virus) (g). Las moléculas proteicas se combinan con el genoma vRNA durante la creación de nuevos virus (h) que brotan de la superficie de la célula hospedadora (i) y luego proceden a infectar a otras células (j).

PREGUNTA 17.17 ¿Qué es la cápside? Describa sus componentes.

PREGUNTA 17.18 Relacione todas las clases de genomas que se encuentran en los virus.

PREGUNTA 17.19 Nombre el sustrato y el producto de la enzima vírica transcriptasa inversa.

PREGUNTA 17.20 Describa los acontecimientos principales que tienen lugar cuando un virus DNA recubierto infecta una célula hospedadora y produce la progenie.

PREGUNTA 17.21 Describa los acontecimientos que tienen lugar cuando un retrovirus infecta una célula hospedadora.

PREGUNTA 17.22 Recuerde que de acuerdo con el dogma central, el flujo de la información genética va del DNA al RNA y luego a la proteína. Los retrovirus son una excepción a esta regla. Las alteraciones del dogma central que se observan en los retrovirus y otros virus RNA pueden ilustrarse de la forma siguiente:

DNA ⇄ RNA → Proteína

Compare esta ilustración con la original del dogma central (pág. 563). Describa con sus propias palabras las implicaciones de cada componente de estas figuras.

PREGUNTA 17.23 Las pruebas de detección sistemática del VIH detectan la presencia de anticuerpos contra el VIH en el suero sanguíneo. La prueba VIH más común, un kit ELISA que contiene antígenos del VIH, detecta estos anticuerpos. Debido al significado de una prueba VHI positiva, que puede alterar la vida de una persona, la presencia de la infección por el VIH se confirma con otra prueba más cara. En la mayoría de los laboratorios, esta prueba de confirmación es un análisis de transferencia Western. Los análisis de transferencia Western son semejantes a la transferencia Southern (Métodos Bioquímicos 17.1) con las excepciones siguientes. La transferencia Western detecta la presencia de proteínas específicas en lugar de secuencias específicas de DNA. En el análisis VIH, estas proteínas son anticuerpos contra gp41 y gp120. Si hay una unión antígeno-anticuerpo en el gel, se detecta con anticuerpos «antihumanos» marcados. (Los anticuerpos antihumanos se unen específicamente a determinados lugares distintos de los lugares, de unión del antígeno que existen en todos los anticuerpos humanos.) Tras revisar la exposición del ELISA (Métodos Bioquímicos 16.1), describa cómo se realiza una prueba de ELISA para el VIH. Con relación a la exposición de la transferencia Southern, describa en términos generales cómo se realiza un análisis de transferencia Western para la infección por el VIH. (*Pista*: Una transferencia Western para el VIH comienza con la separación de los antígenos conocidos del VIH por electroforesis en gel de poliacrilamida.)

RESUMEN

1. La información que se requiere para dirigir todos los procesos vivos está almacenada en la secuencia de nucleótidos del DNA. El DNA está formado por dos cadenas antiparalelas de polinucleótidos enrolladas una sobre la otra para formar una doble hélice a derechas. Los enlaces desoxirribosa-fosfodiéster forman los esqueletos de la doble hélice y las bases de los nucleótidos se proyectan hacia su interior. Los apareamientos de bases de los nucleótidos se forman debido a los enlaces de hidrógeno entre determinadas bases: adenina con timina y citosina con guanina. Las mutaciones son cambios de la estructura del DNA, que pueden producirse por colisiones con las moléculas del disolvente, fluctuaciones térmicas, ROS, radiación o xenobióticos.
2. El DNA puede tener varias conformaciones dependiendo de la secuencia de nucleótidos. Además de la estructura clásica determinada por Watson y Crick (DNA B), se han observado DNA A, DNA H y DNA Z. El superenrollamiento del DNA es una característica esencial de diversos procesos biológicos, como el empaquetamiento del DNA, la replicación y la transcripción.
3. Cada cromosoma eucariota está formado por nucleohistonas, un complejo que se forma por el enrollamiento de una única molécula de DNA alrededor de un octámero de histonas para formar un nucleosoma. El DNA de las mitocondrias y los cloroplastos es semejante a los cromosomas que se encuentran en los procariotas.
4. Las formas de RNA que se encuentran en las células, es decir, RNA de transferencia, ribosómico, mensajero, heterogéneo y nuclear pequeño, participan en la síntesis de proteínas. El RNA se diferencia del DNA en que contiene ribosa (en lugar de desoxirribosa), tiene una composición de bases algo diferente, y normalmente es de cadena sencilla. Las moléculas de RNA de transferencia tienen aminoácidos específicos unidos a ellas por enzimas específicas y los transportan a los ribosomas, para su incorporación a las proteínas que se sintetizan, donde se alinean de forma adecuada durante la síntesis de proteínas. Los RNA ribosómicos son componentes de los ribosomas. El RNA mensajero contiene dentro de su secuencia de nucleótidos las instrucciones codificadoras para sintetizar un polipéptido específico. El RNA nuclear heterogéneo es el transcrito original que se produce por el apareamiento de bases complementario a partir de un DNA molde. Posteriormente se procesa para formar el mRNA. Los RNA nucleares pequeños participan en las actividades de corte y empalme durante la síntesis de los mRNA.
5. Los virus son parásitos intracelulares estrictos. Aunque son acelulares y no pueden realizar actividades metabólicas por sí mismos, los virus pueden causar estragos en los seres vivos. Cada clase de virus infecta una clase específica de hospedador (o conjunto pequeño de hospedadores). Un virus hace esto debido a que puede inyectar su genoma o introducir toda la partícula vírica en la célula hospedadora. Cada virus posee la capacidad de utilizar los procesos metabólicos de la célula hospedadora para fabricar copias nuevas de sí mismo, denominadas viriones. Los virus poseen genomas de dsDNA, ssDNA, dsRNA o ssRNA.
6. El VIH es un retrovirus que produce el SIDA. Los retrovirus son una clase de virus RNA que poseen una actividad transcriptasa inversa que convierte su genoma RNA en una molécula de DNA. Este vDNA posteriormente se inserta en el genoma de la célula hospedadora, produciendo una infección permanente. Finalmente, la infección por el VIH destruye el sistema inmunitario de las personas infectadas.

LECTURAS RECOMENDADAS

Brown, T. A., *Genomes*, Wiley-Liss, New York, 1999.

Butler, J. M., *Forensic DNA Typing: Biology and Technology Behind STR Markers*, Academic Press, San Diego, 2001.

Calladine, C. R., and Drew, H. R., *Understanding DNA: The Molecule and How It Works*, Academic Press, San Diego, 1992.

Frank-Kamenetskii, M. D., and Mirkin, S. M., Triple Helix DNA Structures, *Ann. Rev. Biochem.*, 64:65-95, 1995.

Gallo, R. C., and Montagnier, L., The Chronology of AIDS Research, *Nature*, 326(6112):435-436, 1987.

Glick, B. R., and Pasternak, J. J., *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*, 2nd ed., ASM Press, Washington, D.C., 1998.

Herrmann, B., and Hummel, S. (Eds.), *Ancient DNA*, Springer-Verlag, New York, 1994.

Julian, M. M., Women in Crystallography, in Kass-Simon, G., and Farnes, P. (Eds.), *Women of Science: Righting the Record*, págs. 359-364, Indiana University Press, Bloomington and Indianapolis, 1990.

Kolata, G., *Flu: The Story of the Great Influenza Pandemic of 1918 and the Search for the Virus that Caused It*, Farrar, Straus, and Giroux, New York, 1999.

Lewin, B., *Genes VII*, Oxford University Press, New York, 2000.

Lykke-Anderson, J., Aagaard, C., Semionenkov, M., and Garret, R. A., Archaeal Introns: Splicing, Intercellular Mobility and Evolution, *Trends Biochem. Sci.*, 22: 326-331, 1997.

Maxwell, E. S., and Fournier, M. J., The Small Nuclear RNAs, *Ann. Rev. Biochem.*, 35:897-934, 1995.

Portugal, F. H., and Cohen, J. S., *A Century of DNA: A History of the Discovery of the Structure and Function of the Genetic Substance*, MIT Press, Cambridge, Mass, 1977.

Varmus, H., Retroviruses, *Science*, 240:1427-1435, 1988.

Watson, J. D., *The Double Helix*, Atheneum, New York, 1968.

Weintraub, H. M., Antisense RNA and DNA, *Sci. Amer.*, 262(1):40-46, 1990.

Wolffe, A., *Chromatin: Structure and Function*, 3rd ed., Academic Press, San Diego, 1998.

PALABRAS CLAVE

alquilación, *570*
análogos de las bases, *569*
apareamiento de bases de Hoogsteen, *576*
apoptosis, *604*
biología molecular, *563*
cadena antisentido, *596*
cadena con sentido, *596*
centrómero, *585*
ciclo lítico, *601*
cistrón, *595*
clonación, *592*
corte y empalme, *595*
cromatina, *580*
cromosoma, *579*
cruciforma, *575*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina claramente los siguientes términos:
   a. genética
   b. replicación
   c. transcripción
   d. esqueleto azúcar-fosfato
   e. bacteriófago
   f. regla de Chargaff
   g. palíndromo
   h. apareamiento de bases de Hoogsteen
   i. proteómica
   j. familia Alu
   k. transcriptoma
   l. DNA satélite
   m. transposón
   n. efecto hipocrómico
   o. huellas de DNA
   p. DNA STR
2. Existen varias formas estructurales del DNA. Dé una lista y describa cada forma.
3. Describa la estructura de orden superior del DNA que se denomina superenrollamiento.
4. Dé una relación de tres propiedades biológicas que facilitan el superenrollamiento.
5. Dé una relación de tres diferencias entre el DNA eucariota y procariota.
6. Describa la estructura de un nucleosoma.
7. Describa las diferencias estructurales entre el RNA y el DNA.
8. ¿Cuáles son las tres formas más comunes del RNA? ¿Qué funciones realizan en la célula?
9. El DNA Z recibe su nombre de la conformación en zig-zag de los grupos fosfato. ¿Qué características de la molécula de DNA permiten que se forme esta estructura diferenciada?
10. Existe un par de bases cada 0.34 nm de DNA y la longitud total del DNA de una célula humana es de 2 m. Calcule el número de pares de bases de una célula. Suponiendo que en el cuerpo humano hay 10^{14} células, calcule la longitud total del DNA. Compare esta distancia con la que existe entre la Tierra y el Sol (1.5×10^8 km).
11. Una muestra de DNA contiene un 21 % de adenina. ¿Cuál es su composición porcentual de bases?
12. La temperatura de fusión de una molécula de DNA aumenta al aumentar el contenido G-C. Explíquelo.
13. ¿Qué condiciones físicas producen la desnaturalización del DNA?
14. Organice los términos siguientes de forma jerárquica:
    a. cromosoma
    b. gen
    c. nucleosoma
    d. par de bases de nucleótidos
15. Proporcione la cadena complementaria y el RNA producto de transcripción del segmento de DNA siguiente:

    5′-AGGGGCCGTTATCGTT-3′
16. Defina los siguientes términos:
    a. telómero
    b. minisatélite
    c. perfil de DNA
    d. intrón
    e. exón
    f. retrotransposón
    g. desnaturalización del DNA
    h. método de terminación de cadena
    i. PCR
    j. corte y empalme

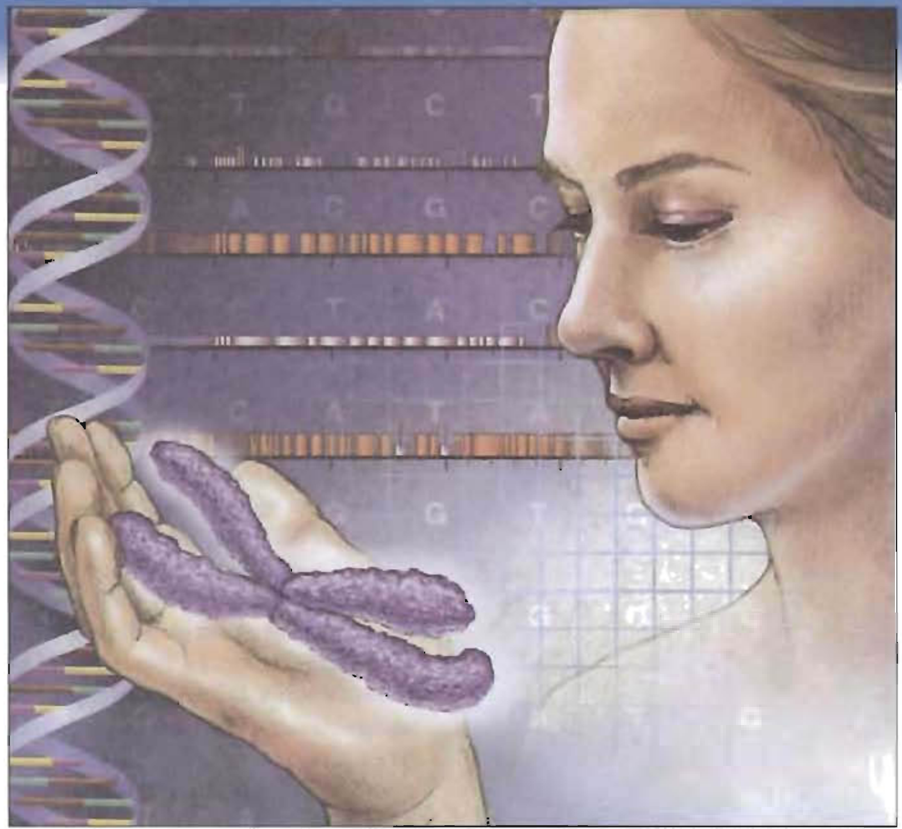
PREGUNTAS DE RAZONAR

1. En condiciones fisiológicas, el DNA se encuentra en forma de DNA B. Sin embargo, las horquillas de RNA y los híbridos DNA-RNA adoptan la estructura de DNA A. Considerando las diferencias estructurales entre el DNA y el RNA, explique este fenómeno.
2. ¿Qué características estructurales del DNA producen la formación de los surcos principal y secundario?
3. Explique en términos generales cómo participan las poliaminas en la consecución de una estructura muy comprimida del DNA.
4. Al contrario de la doble hélice del DNA, el RNA se encuentra como una cadena sencilla. ¿Qué efectos tiene esto sobre la estructura del RNA?
5. Jerome Vinograd encontró que el DNA circular de un virus del polioma se separa en dos bandas diferentes cuando se centrifuga. Una banda consta de DNA superenrollado y la otra de DNA relajado. Explique cómo podría identificar cada banda.
6. El 5-bromouracilo es un análogo de la timina que normalmente se aparea con la adenina. Sin embargo, el 5-bromouracilo frecuentemente se aparea con la guanina. Explíquelo.
7. El flujo de información genética es del DNA al RNA y a la proteína. En determinados virus, el flujo de información es del RNA al DNA. ¿Es posible para ese flujo de información su comienzo en las proteínas? Explíquelo.
8. El VIH es un retrovirus. Sugiera razones por las que la producción de una vacuna para evitar la infección con el VIH es tan difícil de conseguir.
9. Desea aislar DNA mitocondrial sin contaminar con el DNA nuclear. Describa cómo realizaría esta tarea.
10. A diferencia del DNA ligador y del DNA desproteinizado, los segmentos de DNA enrollados alrededor de los núcleos de histonas son relativamente resistentes a las acciones hidrolíticas de las nucleasas. Explíquelo.
11. El conjunto de mRNA presente dentro de una célula cambia con el tiempo. Explíquelo.
12. El DNA y el RNA son moléculas con gran cantidad de información. Explique el significado y las implicaciones de esta afirmación.
13. Se ha resuelto finalmente el caso de un asesinato de un niño de 10 años en una pequeña ciudad gracias a los esfuerzos de un detective que aprovechó una nueva base de datos estatal de DNA que contiene muestras de DNA de criminales condenados. Explique cómo se resolvió este caso con la llegada de una unidad de delitos al lugar del crimen. ¿Qué avances tecnológicos hicieron posible la resolución del caso?

CAPÍTULO DIECIOCHO

Información genética

SUMARIO



Proyecto Genoma Humano. Los esfuerzos de los bioquímicos por descubrir los mecanismos de la herencia que comenzaron hace un siglo han dado lugar recientemente a la secuenciación del genoma humano. La tecnología puesta a punto por los bioquímicos y los biólogos moleculares, como la electroforesis y las máquinas para secuenciar el DNA cada vez más sofisticadas, automáticas y computarizadas han hecho posible esta proeza extraordinaria. El proyecto genoma humano, realizado por miles de científicos en laboratorios públicos y privados de todo el mundo, ha tardado en realizarse alrededor de 15 años. Los investigadores están ahora comenzando a interpretar y utilizar esta enorme avalancha de información generada por este esfuerzo para resolver los problemas médicos y biológicos de los seres humanos.

En los últimos años, la investigación de la herencia genética que comenzó con Mendel ha alcanzado una fase explosiva. El conocimiento relacionado con la forma en la que las células almacenan, utilizan y heredan la información genética aumenta de forma constante. Los bioquímicos y los genetistas están descubriendo afanosamente los principios de la función de los ácidos nucleicos. Las consecuencias prácticas del trabajo realizado en los años 1980 y 1990 ya ha sido considerable. Además de las numerosas aplicaciones médicas (p. ej., pruebas diagnósticas y tratamientos), la tecnología del DNA recombinante ha permitido a los investigadores acceder al trabajo interno de los seres vivos de formas nunca antes posibles. No sólo son más accesibles a la investigación cuestiones sobre los procesos vivos que han aguardado durante mucho tiempo, sino que se está realizando un progreso enormemente rápido en el conocimiento de las bases moleculares de una gran variedad de enfermedades como el cáncer y las enfermedades cardíacas. La experiencia reciente sugiere que es imposible predecir los resultados de la investigación sobre los ácidos nucleicos. Sea lo que sea lo que suceda, ciertamente será estimulante.

Cualquier sistema de éxito que se fundamente en la información requiere dos aspectos: conservación y transferencia. Las instrucciones que se requieren para producir un tipo determinado de organización (p. ej., las direcciones para construir una casa o para reproducir un ser vivo) deben almacenarse de forma estable, de manera que sean exactas y estén disponibles para que el sistema pueda utilizarlas. Sin embargo, para que la información sea útil debe también ser transferible. Por consiguiente, la utilización de moléculas orgánicas por los seres vivos para almacenar y transferir la información presenta una paradoja obvia. Debido a que la transferencia de información comporta cambios de la configuración molecular, si una molécula orgánica es suficientemente estable para conservar la información que contiene, es probablemente demasiado rígida o arreactiva para transferir la información. Los seres vivos han resuelto este problema repartiendo estas tareas entre dos reinos moleculares. El DNA posee características estructurales que potencian el almacenamiento y duplicación de la información; las proteínas tienen estructuras tridimensionales diversas y flexibles que potencian la transferencia de información. El DNA es realmente una molécula relativamente inerte que está protegida de alguna manera de las colisiones moleculares (dentro del nucleoide de los procariotas y de los núcleos de los eucariotas). Todos los procesos por los que se utiliza esta información implican trabajo mecánico que realizan dispositivos procesadores de la información de tipo proteico. Cuando se activan las máquinas moleculares, formadas en gran parte por proteínas engranadas e impulsadas por recursos energéticos celulares, pueden doblar, girar, desenrollar y abrir las moléculas de DNA durante procesos como la replicación y la transcripción. La unión entre secuencias específicas de DNA y las máquinas moleculares adecuadas se consigue mediante componentes proteicos que «reconocen» determinadas secuencias. El reconocimiento se produce debido a que cada proteína posee un conjunto singular de contornos que permiten numerosos contactos atómicos con el DNA y/o los dominios que sobresalen, como los dedos de cinc, (Capítulo 5, véase la pág. 134) que se insertan directamente dentro de la doble hélice.

El Capítulo 18 proporciona una visión general de los mecanismos que utilizan los seres vivos para sintetizar los ácidos nucleicos, DNA y RNA, que dirigen los procesos celulares. El capítulo comienza con la consideración de varios aspectos de la **replicación** (síntesis), la reparación y la **recombinación** (redistribución de las secuencias de DNA) del DNA. Siguen a continuación descripciones de la síntesis y procesamiento del RNA, las moléculas de ácidos nucleicos que participan en la conversión de las secuencias génicas en polipéptidos. También se incluye una visión general de varias herramientas biotecnológicas que utilizan los bioquímicos para investigar los procesos vivos. El Capítulo 18 finaliza con una sección dedicada a la expresión de los genes, los mecanismos que utilizan las células para producir los productos de los genes de una manera ordenada y adecuada en el tiempo.

18.1. INFORMACIÓN GENÉTICA: REPLICACIÓN, REPARACIÓN Y RECOMBINACIÓN

Debido a la importancia estratégica del DNA, todos los seres vivos deben poseer las siguientes características: (1) síntesis rápida y exacta del DNA y (2) estabilidad genética proporcionada por mecanismos de reparación del DNA eficaces. Paradójicamente, la supervivencia a largo plazo de las especies depende también de las variaciones genéticas que las permiten adaptarse a los ambientes cambiantes. En la mayoría de las especies estas variaciones surgen predominantemente de la recombinación genética, aunque también participan las mutaciones. En las secciones siguientes, se presentan los mecanismos que utilizan los procariotas y los eucariotas para conseguir estos objetivos. Se conocen mejor los procesos de la información genética de los procariotas que los de los eucariotas. Los procariotas (especialmente *Escherichia coli*) son excelentes para las investigaciones de los mecanismos genéticos debido a sus mínimos requerimientos de crecimiento, los tiempos cortos de generación y la composición genética relativamente sencilla. Por el contrario, los

eucariotas multicelulares poseen varias propiedades que obstaculizan las investigaciones genéticas. La más impresionante son los largos tiempos de generación (con frecuencia meses o años) y las extraordinarias dificultades para identificar los productos génicos (p. ej., las enzimas o los componentes estructurales). Una táctica común en la investigación genética es inducir mutaciones, y posteriormente observar los cambios de un producto génico específico o su ausencia. Desafortunadamente, debido a su considerable complejidad, en los organismos superiores este método ha identificado muy pocos productos génicos. La técnicas de DNA recombinante se están empleando para burlar este obstáculo.

Replicación del DNA

La replicación del DNA tiene lugar antes de cada división celular. El mecanismo por el que se producen las copias de DNA es semejante en todos los seres vivos. Tras separarse las dos cadenas, cada una de ellas se utiliza como molde para la síntesis de una cadena complementaria (Fig. 18-1). (En otras palabras, cada una de las dos nuevas moléculas de DNA contiene una cadena vieja y una cadena nueva.) Este proceso, que se denomina **replicación semiconservadora**, se demostró por primera vez en un experimento elegante (Fig. 18-2) que describieron en 1958 Matthew Meselson y Franklin Stahl. En este trabajo clásico, Meselson y Stahl utilizaron el aumento de la densidad del DNA marcado con el isótopo pesado del nitrógeno ^{15}N (el isótopo del nitrógeno más abundante es ^{14}N). Tras crecer las células de *E. coli* durante 14 generaciones en un medio de crecimiento cuyo aporte de nitrógeno consistía únicamente en $^{15}NH_4Cl$, las células que contenían ^{15}N se transferían a un medio de crecimiento que contenía el isótopo ^{14}N. Se tomaban muestras al final de una y dos divisiones celulares. Posteriormente se aislaba y analizaba mediante centrifugación en gradiente de densidad de CsCl el DNA de cada una de estas muestras. (Remítase a Métodos Bioquímicos 2.1 para una descripción de la centrifugación en gradiente de densidad.) Debido a que los DNA-^{15}N y DNA-^{14}N puros producen bandas características en los tubos de CsCl centrifugados, este método analítico discrimina entre las moléculas de DNA que contienen grandes cantidades de los dos isótopos del nitrógeno. Cuando se centrifugaba el DNA aislado de las células que contenían ^{15}N crecidas con precisión durante una generación en el medio de ^{14}N, se observaba una única banda. Debido a que esta banda se encontraba a la mitad de la distancia donde normalmente debían aparecer las bandas de DNA-^{15}N y DNA-^{14}N, parecía razonable suponer que el nuevo DNA era una molécula híbrida, es decir, contenía una cadena de ^{15}N y una cadena de ^{14}N. (Cualquier otro medio de replicación crearía más de una banda.) Tras dos divisiones celulares, el DNA extraído se separaba en dos bandas discretas de igual densidad, una formada por DNA-^{14}N,^{14}N (DNA ligero) y otra formada por moléculas híbridas (DNA-^{14}N,^{15}N), un resultado que también apoyaba el modelo semiconservador de la síntesis de DNA.

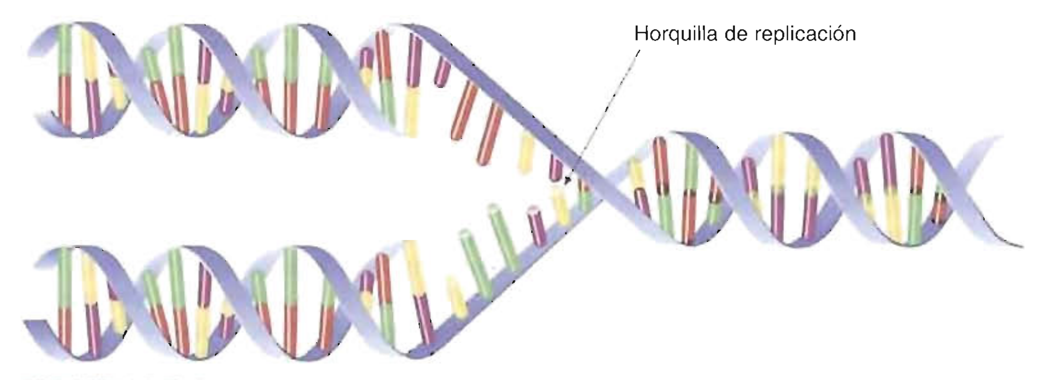


FIGURA 18-1

Replicación semiconservador del DNA.

Al desenrollarse la doble hélice en la horquilla de replicación, cada una de las cadenas viejas sirve como molde para la síntesis de una cadena nueva.

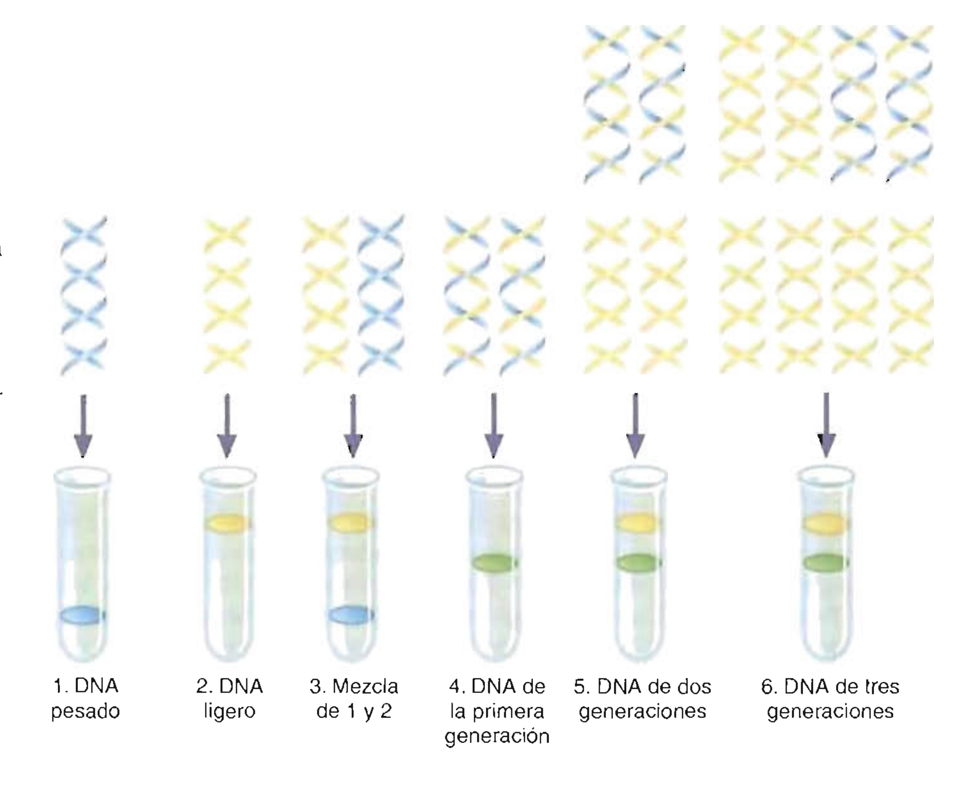


FIGURA 18-2

Experimento de Meselson-Stahl.

La centrifugación en CsCl del DNA de *E. coli* puede diferenciar el DNA pesado crecido en un medio con ^{15}N (1) del DNA ligero crecido en un medio con ^{14}N (2). En (3) se muestra una mezcla de ambos. Cuando las células de *E. coli* enriquecidas en ^{15}N crecen en ^{14}N durante una generación, todo el DNA genómico es de densidad intermedia (4). Tras dos generaciones, la mitad del DNA es ligero y la mitad es de densidad intermedia (5). Tras tres generaciones, el 75% del DNA es ligero y el 25% es de densidad intermedia (6).

En los años transcurridos desde el experimento de Meselson y Stahl se han descubierto muchos de los detalles de la replicación del DNA. Como se ha mencionado antes, gran parte de este trabajo se ha realizado utilizando *E. coli* y otros procariotas.

SÍNTESIS DEL DNA EN LOS PROCARIOTAS La replicación del DNA en *E. coli* es un proceso complejo que consta de varios pasos básicos. Cada paso requiere varias actividades enzimáticas.

1. **Desenrollamiento del DNA**. Como su nombre indica, las **helicasas** son enzimas que requieren ATP y que catalizan el desenrollamiento del DNA dúplex. La helicasa principal de *E. coli* es la proteína Dna B, un producto del gen dnaB.
2. **Síntesis del cebador**. La formación de segmentos cortos de RNA que se denominan **cebadores**, necesarios para la iniciación de la replicación del DNA, está catalizada por la **primasa**, una RNA polimerasa. La primasa es un producto polipeptídico de 60 kD del gen dnaG. Se denomina **primosoma** a un complejo multienzimático que contiene primasa y varias proteínas auxiliares.
3. **Síntesis de DNA**. La síntesis de una cadena de DNA complementaria por la formación de enlaces fosfodiéster entre los nucleótidos apareados por la base a una cadena molde está catalizada por grandes complejos multienzimáticos que se denominan DNA polimerasas (Fig. 18-3). La DNA polimerasa III (pol III) es la principal enzima que sintetiza DNA en los procariotas. La holoenzima pol III está formada por al menos 10 subunidades (Cuadro 18-1). La polimerasa central está formada por tres subunidades: α, ε y θ. La subunidad τ permite a dos complejos enzimáticos centrales formar un dímero. La proteína β (que también se denomina proteína de deslizamiento de la abrazadera) está formada por dos subunidades (Fig. 18-4). Forma un anillo alrededor de la cadena molde de DNA. El complejo γ, formado por cinco subunidades, reconoce las cadenas sencillas de DNA con cebadores y transfiere la proteína β a la polimerasa central. El complejo γ estimula también la **procesividad** del complejo polimerasa; es decir, impide la disociación frecuente de la polimerasa del DNA molde. La atadura creada por la proteína β permite a la holoenzima permanecer asociada con el DNA molde al producirse la replicación. La máquina de replicación del DNA, que se denomina **replisoma**, está formada por dos copias de la

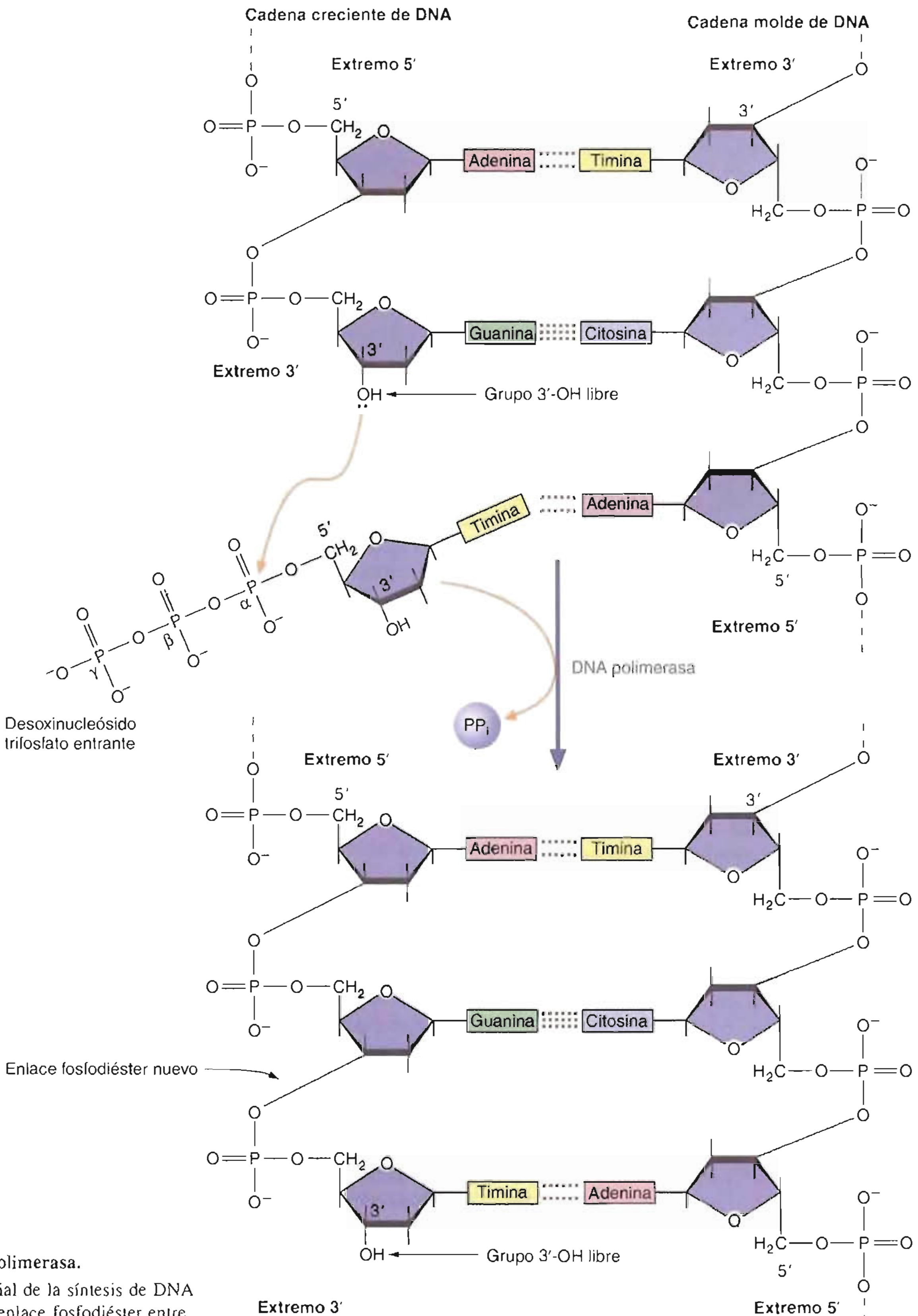


FIGURA 18-3

Reación de la DNA polimerasa.

La característica esencial de la síntesis de DNA es la formación de un enlace fosfodiéster entre una cadena creciente de 5′-3′-DNA y un dNTP (desoxirribonucleósido trifosfato) entrante. El enlace se crea por un ataque nucleófilo del grupo 3′-hidroxilo del residuo terminal sobre el fosfato α del dNTP

CUADRO 18-1
Subunidades de la DNA polimerasa III

		Subunidad	Función
Holoenzima	Central	α	Polimerasa 5′ → 3′
		ε	Exonucleasa 3′ → 5′
		θ	Desconocida
		τ	Dimerización de la central, ATPasa
		β	Deslizamiento de la abrazadera
	Complejo γ	γ	
		δ	Unidad de carga de la abrazadera que hidroliza el ATP para impulsar la unión de la proteína β al DNA
		δ′	
		χ	
		ψ	También impulsa la procesividad

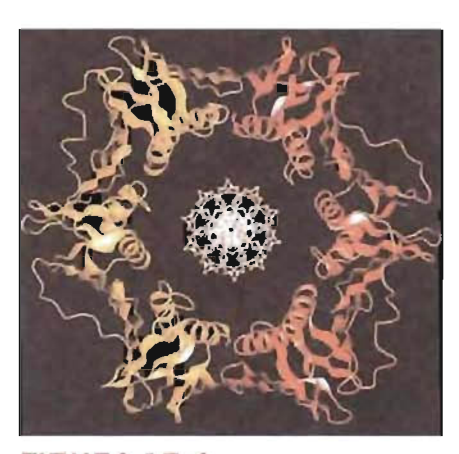


FIGURA 18-4
Corte transversal de la subunidad β de la DNA polimerasa III.
La proteína β es un dímero (se muestra en rojo y naranja) que rodea al DNA y actúa como una abrazadera.

holoenzima pol III, el primosoma, y las proteínas de desenrollamiento del DNA. La DNA polimerasa I (pol I), que se denomina también enzima de Kornberg en honor de su descubridor Arthur Kornberg (Premio Nobel de fisiología o medicina de 1959), es una enzima de reparación del DNA. La Pol I participa también en la eliminación oportuna del RNA cebador durante la replicación. No se conoce la función de la DNA polimerasa II (pol II), aunque parece ser semejante a la pol I. Además de la actividad polimerizadora 5′ → 3′, las tres enzimas poseen actividad exonucleasa 3′ → 5′(p. ej., la subunidad ε de la pol III.) (Una **exonucleasa** es una enzima que elimina los nucleótidos de un extremo de una cadena de polinucleótidos.) La pol I posee también actividad exonucleasa 5′ → 3′.

4. Unión de los fragmentos de DNA. Cuando se completa la replicación, una enzima denominada **ligasa** une los extremos del DNA recién sintetizado. Esta actividad enzimática es mayor en la cadena discontinua o retardada.

5. Control del superenrollamiento. Las DNA *topoisomerasas* evitan el enmarañamiento de las cadenas de DNA. Actúan por delante de la maquinaria de replicación para aliviar la *torsión* (fuerza giratoria) del DNA que puede lentificar el proceso de replicación. La generación de la torsión es una posibilidad muy real, debido a que la doble hélice se desenrolla rápidamente (hasta 50 revoluciones por segundo durante la replicación del DNA bacteriano). Las topoisomerasas son enzimas que cambian el superenrollamiento del DNA (véase la pág. 577) rompiendo una o ambas cadenas, tras lo cual pasan el DNA a través de la rotura y vuelven a unir ambas cadenas. Los términos *topoisomerasa* y *topoisómeros* (moléculas de DNA circular que sólo se diferencian en su grado de superenrollamiento) proceden de *topología*, una rama de las matemáticas que investiga las características de las estructuras geométricas que no cambian con el doblamiento o el estiramiento. Cuando se controla de forma adecuada, el superenrollamiento puede facilitar la separación de las cadenas de las moléculas de DNA. Las topoisomerasas de tipo I producen roturas transitorias de cadena sencilla en el DNA; las topoisomerasas de tipo II producen roturas transitorias de doble cadena. En los procariotas, una topoisomerasa de tipo II que se denomina DNA girasa ayuda a separar los productos de replicación y a crear los superenrollamientos (–) que se requieren para empaquetar el genoma. (De forma diferente, las topoisomerasas de tipo II sólo catalizan la eliminación de la tensión superhelicoidal.)

La replicación del cromosoma circular de *E. coli* (Fig. 18-5) comienza en un lugar de iniciación preciso que se denomina *oriC* y se produce en las dos direcciones. Las helicasas desenrollan el dúplex de DNA, se ensamblan dos replisomas y tiene lugar la replicación hacia fuera en ambas direcciones. Al separarse uno de otro los dos lugares de la síntesis activa de DNA (que se denominan **horquillas de replicación**) se forma un «ojo de replicación». Debido a que un cromosoma de *E. coli*

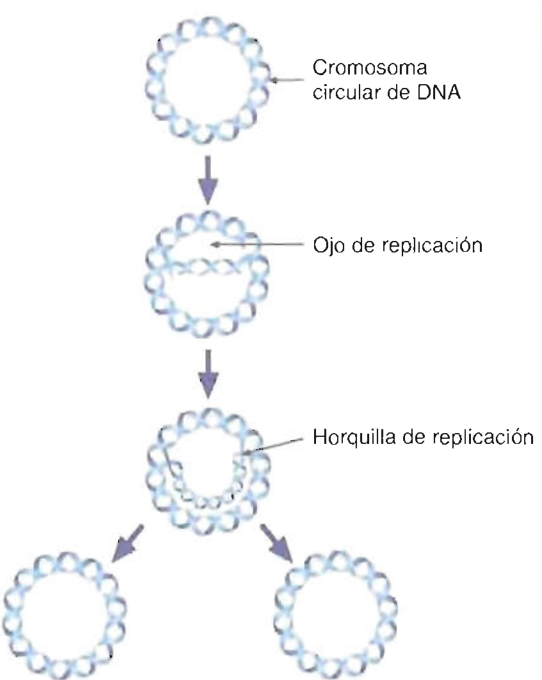


FIGURA 18-5

Replicación del DNA procariota.

Al producirse la replicación del DNA de un cromosoma circular utilizando autorradiografía pueden observarse dos horquillas de replicación. La estructura que se forma se denomina ojo de replicación.

contiene un lugar de iniciación, se considera una única unidad de replicación. Una unidad de replicación, o **replicón**, es una molécula de DNA (o segmento de DNA) que contiene un lugar de iniciación y secuencias reguladoras adecuadas.

Cuando se observó experimentalmente por primera vez la replicación del DNA (utilizando microscopía electrónica y autorradiografía), los investigadores se enfrentaron con una paradoja. La síntesis bidireccional del DNA tal y como aparecía en su investigación parecía indicar que se produce una síntesis continua en la dirección $5' \rightarrow 3'$ en una cadena y en la dirección $3' \rightarrow 5'$ en la otra cadena. (Recuerde que la doble hélice del DNA tiene una configuración antiparalela.) Sin embargo, todas las enzimas que catalizan la síntesis de DNA lo hacen sólo en la dirección $5' \rightarrow 3'$. Posteriormente, se determinó que sólo una cadena, que se denomina *cadena conductora*, se sintetiza de forma continua en la dirección $5' \rightarrow 3'$. La otra cadena, que se denomina *cadena retardada*, también se sintetiza en la dirección $5' \rightarrow 3'$ pero en pequeños trozos (Fig. 18-6). (Reiji Okazaki y sus colegas proporcionaron las pruebas experimentales de la síntesis discontinua de DNA.) Posteriormente, estos

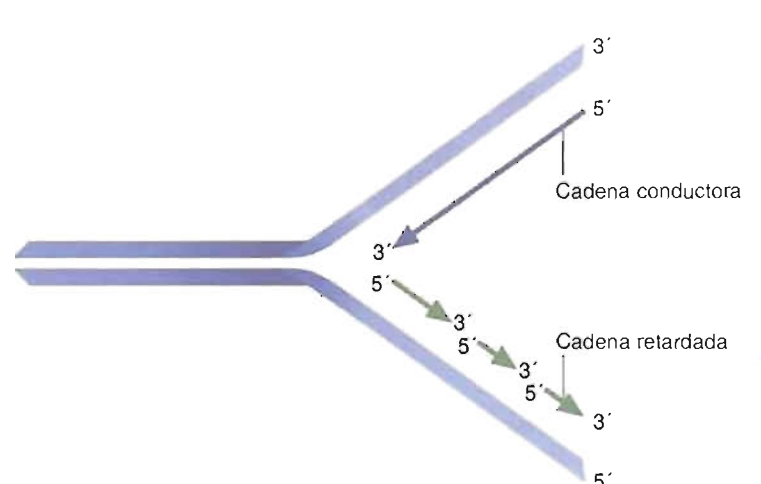


FIGURA 18-6

Replicación del DNA en la horquilla de replicación.

La síntesis $5' \rightarrow 3'$ de la cadena conductora es continua. La cadena retardada también se sintetiza en la dirección $5' \rightarrow 3'$ pero en pequeños trozos (que se llaman fragmentos de Okazaki).

trozos (que actualmente se denominan **fragmentos de Okazaki**) se unen de forma covalente por la DNA ligasa. (En los procariotas como *E. coli*, los fragmentos de Okazaki tienen entre 1000 y 2000 nucleótidos.)

La iniciación de la replicación es un proceso complejo en el que participan varias enzimas, así como otras proteínas. La replicación comienza cuando la *proteína DnaA* (52 kD) se une a cuatro lugares con 9 pb en la secuencia oriC. Cuando otros monómeros de DnaA (entre 20 y 40 copias) se unen a oriC, se forma una estructura semejante a un nucleosoma en un proceso que requiere ATP y una proteína semejante a las histonas (HU). Al irse formando el complejo DnaA-DNA, las «fusiones» del DNA dúplex localizadas en una región cercana que contiene tres repeticiones de 13 pb hacen que se abra un pequeño segmento de la doble hélice. La *DnaB* (una helicasa de 300 kD formada por seis subunidades), que forma un complejo con la *DnaC* (29 kD), entra a continuación en la región oriC abierta. Luego se libera la DnaC. La horquilla de replicación se mueve hacia delante al desenrollar la DnaB la hélice (Fig. 18-7). Las topoisomerasas alivian la fuerza de torsión por adelante de la maquinaria de replicación. Al desenrollarse el DNA, la DnaA se desplaza. Las cadenas se mantienen separadas por la unión de numerosas copias de la proteína de unión a las cadenas sencillas (SSB). La SSB, un tetrámero, también puede proteger del ataque de las nucleasas a los segmentos vulnerables de ssDNA.

En la Figura 18-8 se presenta un modelo de síntesis de DNA en la horquilla de replicación. Para que la pol III inicie la síntesis de DNA, debe sintetizarse un RNA cebador. En la cadena conductora, donde la síntesis de DNA es continua, la formación del cebador sólo tiene lugar una vez por horquilla de replicación. Por el contrario, la síntesis discontinua en la cadena retardada requiere la síntesis de un cebador por cada uno de los fragmentos de Okazaki. El primosoma viaja a lo largo de la cadena retardada y se detiene e invierte la dirección a intervalos para sintetizar un RNA cebador corto. A continuación, la pol III sintetiza el DNA comenzando por el extremo 3′ del cebador. Al continuar la síntesis de la cadena retardada, la RNasa

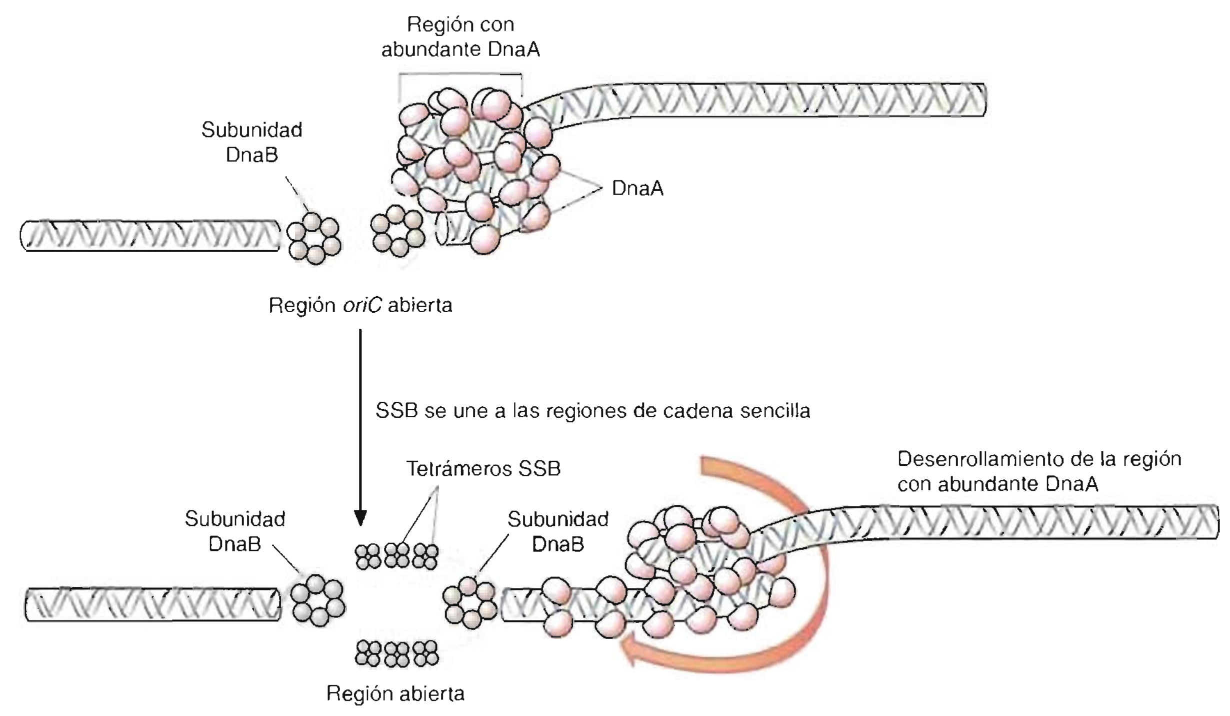


FIGURA 18-7

Formación de la horquilla de replicación.

Tras la unión de la DnaA y la DnaB, la helicasa DnaB separa las cadenas del DNA dúplex en dos horquillas de replicación. La unión de SSB al ssDNA recién formado impide la reasociación de las cadenas sencillas. Al avanzar la horquilla de replicación, se desenrolla la región DnaA-DNA. A continuación se desplaza la DnaA.

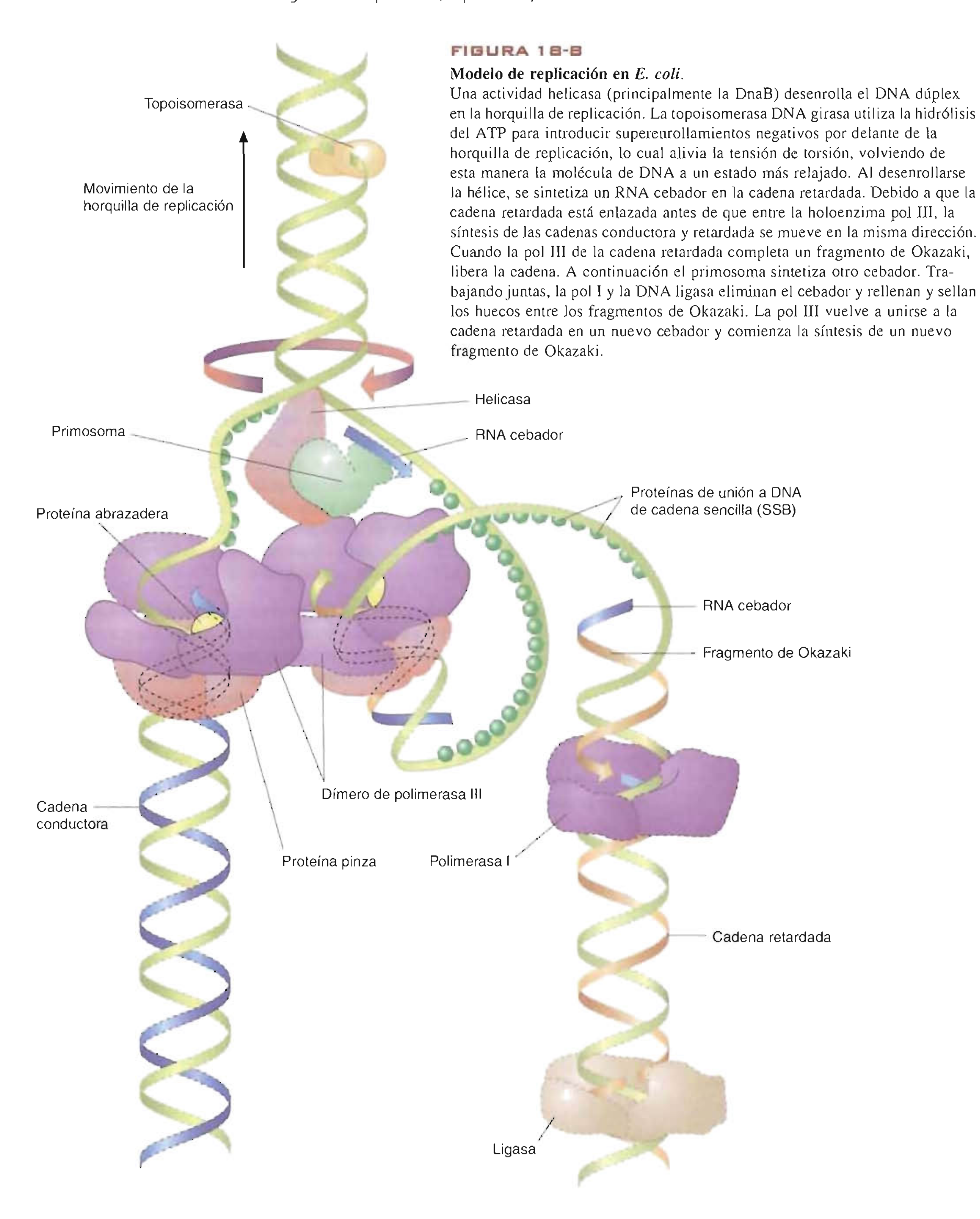


FIGURA 18-8

Modelo de replicación en *E. coli*.
Una actividad helicasa (principalmente la DnaB) desenrolla el DNA dúplex en la horquilla de replicación. La topoisomerasa DNA girasa utiliza la hidrólisis del ATP para introducir superenrollamientos negativos por delante de la horquilla de replicación, lo cual alivia la tensión de torsión, volviendo de esta manera la molécula de DNA a un estado más relajado. Al desenrollarse la hélice, se sintetiza un RNA cebador en la cadena retardada. Debido a que la cadena retardada está enlazada antes de que entre la holoenzima pol III, la síntesis de las cadenas conductora y retardada se mueve en la misma dirección. Cuando la pol III de la cadena retardada completa un fragmento de Okazaki, libera la cadena. A continuación el primosoma sintetiza otro cebador. Trabajando juntas, la pol I y la DNA ligasa eliminan el cebador y rellenan y sellan los huecos entre los fragmentos de Okazaki. La pol III vuelve a unirse a la cadena retardada en un nuevo cebador y comienza la síntesis de un nuevo fragmento de Okazaki.

elimina los RNA cebadores y los sustituye por segmentos de DNA que sintetiza la pol I. La DNA ligasa une los fragmentos de Okazaki.

Como muestra la Figura 18-8, la síntesis de ambas cadenas, conductora y retardada, está acoplada. La operación tándem de los dos complejos pol III requiere que una cadena (la cadena retardada) se enlace alrededor del replisoma. Cuando el complejo pol III de la cadena retardada completa un fragmento de Okazaki, libera el DNA dúplex. Al hacerlo, el primosoma se desplaza y sintetiza otro RNA cebador.

A pesar de la complejidad de la replicación del DNA en *E. coli* y de su velocidad (hasta 1000 pares de bases por segundo y horquilla de replicación), este proceso es asombrosamente exacto (aproximadamente un error por 10^9 a 10^{10} pares de bases por generación). Esta cantidad de errores tan pequeña es en gran medida consecuencia de la naturaleza precisa del propio proceso de copiado (esto es, la complementariedad del apareamiento de bases). Sin embargo, tanto la pol III como la pol I también corrigen el DNA recién sintetizado. La mayoría de los nucleótidos mal apareados se eliminan (por las actividades $3' \rightarrow 5'$ exonucleasas de la pol II y la pol I) y luego se sustituyen. Diversos mecanismos de reparación posteriores a la replicación contribuyen también a la baja tasa de errores de la replicación del DNA.

La replicación finaliza cuando una horquilla de replicación se encuentra con el otro lado del cromosoma circular en el lugar de terminación, la región *ter* (τ). La región ter está formada por un par de secuencia ter de repeticiones invertidas de 20 pb separadas por un segmento de 20 pb. Cada secuencia ter evita una progresión posterior de una de las horquillas de replicación cuando se une una *proteína de unión ter* (TBP) de 26 kD. No se entiende cómo se separan las dos moléculas hijas de DNA, aunque se cree que actúa una topoisomerasa de tipo II.

SÍNTESIS DEL DNA EN LOS EUCARIOTAS Aunque los principios de la replicación del DNA en los procariotas y los eucariotas tienen una gran parte en común (p. ej., replicación semiconservadora y replicones bidireccionales), también tienen diferencias significativas. No es sorprendente que estas diferencias estén relacionadas con el tamaño y la complejidad de los genomas eucariotas.

1. Momento de la replicación. Al contrario que en las células bacterianas de crecimiento rápido, en las que la replicación tiene lugar durante la mayor parte del ciclo de división celular, la replicación eucariota está limitada a un período específico que se denomina fase S (Fig. 18-9). Se sabe que las células eucariotas producen

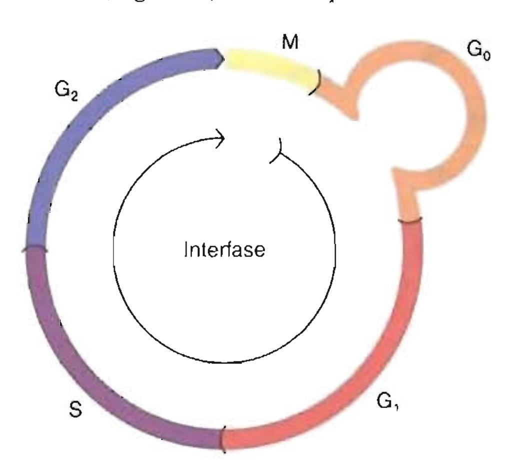


FIGURA 18-9

Ciclo celular eucariota.

La interfase (el período entre las divisiones mitóticas) se divide en varias fases. La replicación del DNA tiene lugar durante la síntesis o fase S. La fase G_1 (primer hueco) es el tiempo entre la mitosis y el comienzo de la fase S. Durante la fase G_2, aumenta la síntesis de proteínas al prepararse la célula para la mitosis (fase M). Tras la mitosis, muchas células entran en una fase de reposo (G_0).

determinadas proteínas (Sección 18.3) que regulan las transiciones de fase dentro del ciclo celular.

2. Velocidad de replicación. La replicación del DNA es significativamente más lenta en los eucariotas que en los procariotas. La velocidad eucariota es aproximadamente de 50 nucleótidos por segundo y horquilla de replicación. (Recuerde que la velocidad en los procariotas es unas 10 veces mayor.) Esta discrepancia probablemente se debe, en parte, a la estructura compleja de la cromatina.

3. Replicones. A pesar de la lentitud relativa de la síntesis del DNA eucariota, el proceso de replicación es relativamente breve, considerando los grande tamaños de los genomas eucariotas. Por ejemplo, de acuerdo con la velocidad de replicación mencionada anteriormente, la replicación de un cromosoma eucariota promedio (aproximadamente 150 millones de pares de bases) tardaría en completarse un mes. Sin embargo, este proceso normalmente requiere algunas horas. Los eucariotas utilizan múltiples replicones para comprimir la replicación de sus grandes genomas en períodos cortos (Fig. 18-10). También, y al contrario que en los procariotas, los eucariotas no tienen replisomas. En su lugar, la síntesis de DNA se produce dentro de lugares inmovilizados del núcleo que se denominan fábricas de replicación. Cada lugar contiene un gran número de complejos de replicación. Al irse sintetizando el DNA, se va enroscando a través de estos complejos.

4. Fragmentos de Okazaki. Los fragmentos de Okazaki de los eucariotas, que tienen entre 100 y 200 nucleótidos, son significativamente más cortos que los de los procariotas.

Aunque muchas enzimas de la replicación de los eucariotas son generalmente semejantes a sus equivalentes procariotas, también poseen sus propias característi-

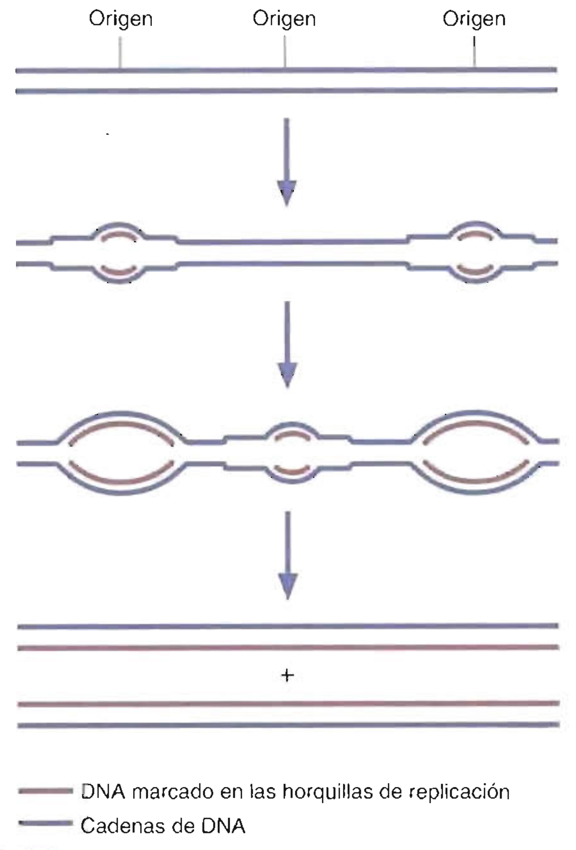


FIGURA 18-10

Modelo de replicón múltiple de la replicación del DNA cromosómico en los eucariotas. Segmento corto de un cromosoma eucariota durante la replicación.

CONCEPTOS CLAVE 18.1

El DNA se replica mediante un mecanismo semiconservador en el que participan varias enzimas. La cadena conductora se sintetiza de forma continua en la dirección 5′ → 3′. La cadena retardada se sintetiza en trozos en la dirección 5′ → 3′; los trozos se unen posteriormente de forma covalente.

cas distintivas. Por ejemplo, los eucariotas tienen cinco DNA polimerasas que se denominan α, β, δ, ε y γ. La DNA polimerasa α inicia la síntesis de ambas cadenas conductora y retardada. La elongación posterior de ambas cadenas está catalizada por dos complejos DNA polimerasa δ, de la misma manera que los de la pol II de *E. coli*, es decir, un complejo sintetiza la cadena conductora, mientras que el otro sintetiza la cadena retardada. Sin embargo, los dos complejos δ no forman un dímero como en la pol III procariota. La proteína A de la replicación (RPA), el homólogo primario de la SSB de los procariotas, evita que las cadenas separadas del DNA vuelvan a formar la hélice de DNA durante la síntesis continua de DNA. La eliminación del RNA cebador de cada fragmento de Okazaki está catalizada por la FEN1 (que también se denomina MF1), una actividad asociada con el complejo δ. Los fragmentos de Okazaki se juntan por una actividad DNA ligasa. La DNA polimerasa δ se une al *PCNA* (antígeno celular nuclear proliferante), una proteína de deslizamiento de la abrazadera de función semejante a la proteína β de *E. coli*. La DNA polimerasa β de los eucariotas se cree que participa en la reparación del DNA. La DNA polimerasa ε, que posee actividad exonucleasa 3′ → 5′, desempeña un papel aún poco conocido tanto en la replicación como en la reparación del DNA. La DNA polimerasa γ cataliza la replicación del genoma mitocondrial. La actividad DNA polimerasa de los cloroplastos aún está escasamente caracterizada.

PREGUNTA 18.1

Explique la función de cada uno de los siguientes términos en la replicación del DNA:

a. primasa
b. cebador
c. topoisomerasa
d. polimerasa
e. proteína β

PREGUNTA 18.2

Defina los siguientes términos:

a. replisoma
b. primosoma
c. replicón
d. cadena conductora
e. fragmento de Okazaki

PREGUNTA 18.3

Describa las características básicas de la formación de la horquilla de replicación durante la síntesis de DNA en *E. coli*.

PREGUNTA 18.4

Compare los procesos de replicación de procariotas y eucariotas.

Reparación del DNA

La tasa de mutación espontánea natural (o de fondo) es notablemente constante entre las especies con un valor de alrededor de 0.1 a 1 mutación por gen por millón de gametos en cada generación. Este cálculo parece bajo, pero la mayoría de las mutaciones son adversas. La mayoría de los cambios genéticos puede esperarse que reduzcan la viabilidad del organismo debido a la complejidad de los procesos vivos. Por ejemplo, los seres humanos (una especie extraordinariamente compleja) pierde aproximadamente el 50% de las concepciones debido a factores genéticos.

Las mutaciones son de diversas formas, desde las mutaciones puntuales (cambios de una única base) a las anomalías cromosómicas grandes (Sección 17.1). Como se ha descrito, están producidas por factores que incluyen las propiedades de las propias bases y diversos procesos químicos (p. ej., despurinaciones y agresión oxidativa), así como los efectos de los xenobióticos (moléculas ajenas). No es sorprendente que las células posean un amplio abanico de mecanismos de reparación del DNA.

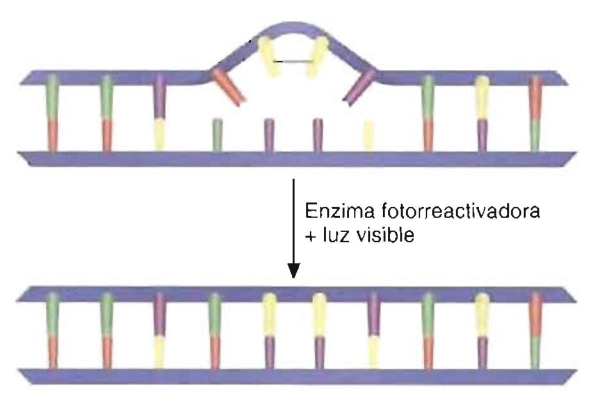


FIGURA 18-11

Reparación por fotorreactivación de los dímeros de timina.

La luz proporciona la energía para convertir el dímero en dos monómeros de timina. En este mecanismo de reparación no se elimina ningún nucleótido. Muchas especies, incluyendo el ser humano, no poseen actividad enzimática DNA fotoliasa.

La importancia del mantenimiento de la integridad estructural del DNA se refleja en la diversidad de mecanismos de reparación del DNA que utilizan las células. Unos pocos tipos de daños del DNA pueden repararse sin la eliminación de los nucleótidos. Por ejemplo, las roturas de los enlaces fosfodiéster pueden repararse por la DNA ligasa. En la **reparación por fotorreactivación** o **reparación inducida por la luz**, los dímeros de pirimidina se restauran a sus estructuras monoméricas originales (Fig. 18-11). En presencia de la luz visible, la DNA fotoliasa rompe el dímero, dejando intacto el enlace fosfodiéster. La energía luminosa que capturan los cromóforos flavina y pterina de la enzima rompe el anillo de ciclobutano.

Sin embargo, la mayoría de los mecanismos de reparación del DNA conllevan la eliminación de nucleótidos. En la **reparación por escisión**, las mutaciones se escinden por una serie de enzimas que eliminan las bases incorrectas y las sustituyen con las correctas. En la Figura 18-12 se muestra la escisión de un dímero de timina en las bacterias. El proceso comienza con la detección de un segmento distorsionado del DNA por una endonucleasa de reparación, que se denomina nucleasa de escisión o escinucleasa. Ésta corta el DNA dañado y elimina una secuencia de una cadena de unos 12 ó 13 nucleótidos. (En los eucariotas, se eliminan secuencias de entre 27 y 29 nucleótidos.) En *E. coli* la escinucleasa está formada por tres proteínas: Uvr A, Uvr B y Uvr C. La Uvr A identifica el lugar dañado y se asocia con la Uvr B para formar un complejo (A_2B). Tras doblar A_2B el DNA, la Uvr A se disocia de Uvr B-DNA. Se une entonces la Uvr C a la Uvr B, cortando la cadena de DNA dañada 4 ó 5 nucleótidos hacia el lado 3′ del dímero de timina. Posteriormente, la Uvr C corta la cadena 8 nucleótidos hacia el lado 5′. La Uvr D, una helicasa, libera la Uvr C y el oligonucleótido que contiene el dímero de timina. El hueco de escisión se repara por la pol I y la DNA ligasa. Aunque la reparación por escisión en el ser humano no se comprende bien, probablemente es más complicada que el proceso procariota debido a que necesita al menos 7 polipéptidos. Los pacientes con xerodermia pigmentosa carecen de varias de estas moléculas. (En la xerodermia pigmentosa, las lesiones de la piel y el cáncer de piel se producen por la exposición a la radiación UV.)

La **reparación recombinatoria** puede eliminar determinados tipos de secuencias dañadas del DNA que no se eliminan antes de la replicación. Para algunos daños estructurales (p. ej., dímeros de pirimidina), la replicación se interrumpe debido a que el complejo de replicación se suelta, se mueve más allá del daño, y se reinicia la síntesis. Una de las moléculas hijas de DNA tiene un hueco frente al dímero de pirimidina. Este hueco puede repararse intercambiando los segmentos correspondientes de la molécula homóloga de DNA. Tras el proceso de recombinación, el hueco recién abierto en la molécula homóloga puede rellenarse fácilmente por la DNA polimerasa y la DNA ligasa, debido a que se encuentra presente un

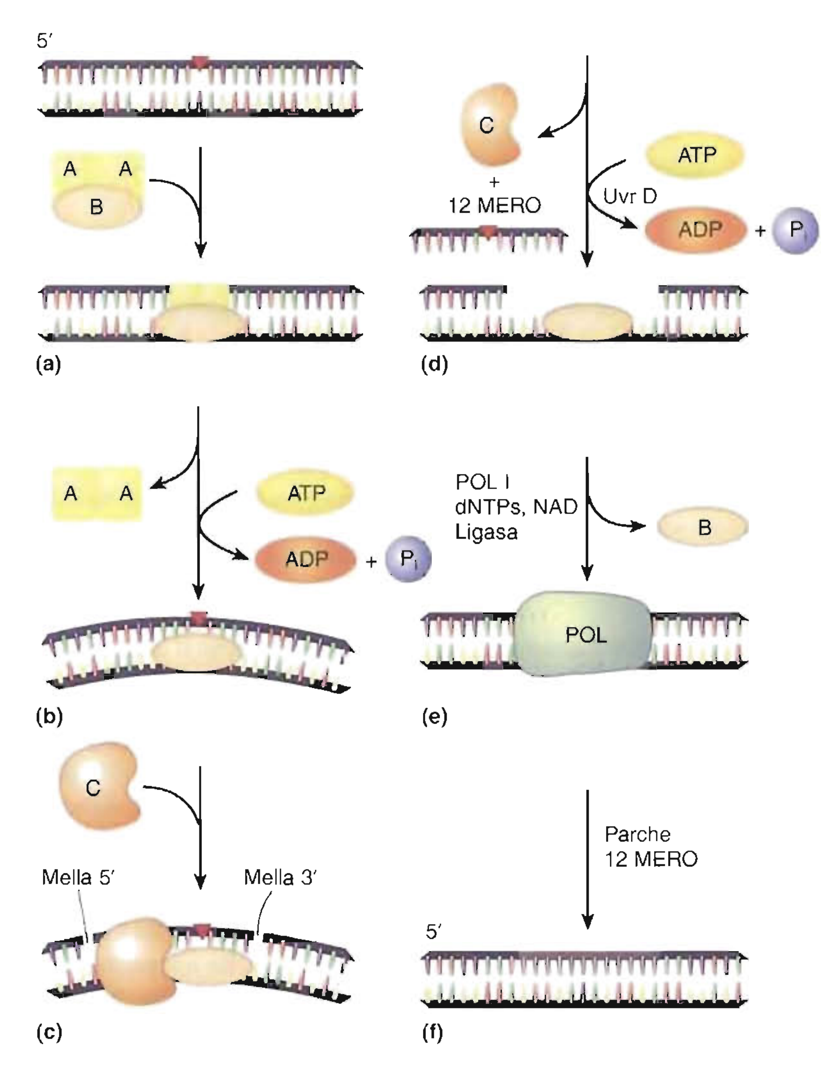


FIGURA 18-12

Reparación por escisión de un dímero de timina en *E. coli*.

La Uvr A, una proteína de reconocimiento de daño, detecta una distorsión helicoidal producida por aductos de DNA como los dímeros de timina (a). Entonces se asocia con la Uvr B para formar el complejo A_2B. Tras unirse a los trozos dañados, A_2B fuerza el doblamiento del DNA. La Uvr A, a continuación, se disocia (b). La unión de la nucleasa Uvr C a Uvr B (c) y la acción de la helicasa Uvr D (d) dan lugar a la escisión de una cadena de DNA de 12 nucleótidos (12-mero). Tras la liberación de la Uvr B (e) la pol I repara el hueco escindido (f).

CONCEPTOS CLAVE 18.2

El DNA se encuentra expuesto constantemente a procesos químicos y físicos que alteran su estructura. La supervivencia de cada organismo depende de su capacidad para reparar este daño estructural.

molde intacto. El segmento dañado que queda (el dímero de pirimidina) puede eliminarse posteriormente por otros mecanismos de reparación. La reparación recombinatoria se parece mucho a la recombinación genética, que se presenta a continuación.

PREGUNTA 18.5

Dé una relación de tres tipos de reparación del DNA. Explique las características básicas de cada uno.

Recombinación del DNA

La recombinación, que suele llamarse recombinación genética, puede definirse como el reordenamiento de las secuencias de DNA por el intercambio de segmentos de diferentes moléculas. El proceso de recombinación, que produce combinaciones nuevas de genes y fragmentos de genes, es principalmente responsable de la diversidad de los seres vivos. Aún más importante, el gran número de variaciones que hace posible la recombinación puede permitir a las especies oportunidades para adaptarse a los ambientes cambiantes. En otras palabras, la recombinación genética es un importante origen de las variaciones que hacen posible la evolución.

Existen dos formas de recombinación: general y específica de lugar. La **recombinación general**, que tiene lugar entre moléculas homólogas de DNA, se observa habitualmente durante la meiosis. (Recuerde que la meiosis es la forma de división de las células eucariotas en la que se producen los gametos haploides.) Se ha observado un proceso semejante en algunas bacterias. En la **recombinación específica de lugar**, el intercambio de secuencias de moléculas diferentes sólo requiere regiones cortas de homología de DNA. Estas regiones están flanqueadas por regiones exten-

sas que no son homólogas. Las recombinaciones específicas de lugar que dependen más de las interacciones proteína-DNA que de las homologías de secuencia, tienen lugar por toda la naturaleza. Por ejemplo, este mecanismo lo utiliza un bacteriófago para integrar su genoma en el cromosoma de *E. coli*. En los eucariotas, la recombinación específica de lugar es responsable de una gran variedad de reordenamientos génicos controlados durante el desarrollo. Los reordenamientos génicos pueden ser responsables, al menos parcialmente, de la diferenciación celular en los organismos multicelulares complejos. Uno de los ejemplos más interesantes de los reordenamientos génicos es la generación de la diversidad de anticuerpos en los mamíferos. En una variación de la recombinación específica de lugar, que se denomina **transposición**, determinadas secuencias que se denominan **elementos transponibles** se mueven de un cromosoma o región del cromosoma a otro. La transposición se diferencia de la recombinación específica de lugar en que se produce una interacción específica proteína-DNA sólo en una de las dos secuencias recombinantes. La recombinación de la segunda secuencia de DNA es inespecífica. Permanece aún sin aclararse el mecanismo mediante el cual tiene lugar la recombinación inespecífica.

RECOMBINACIÓN GENERAL La recombinación general requiere el apareamiento preciso de moléculas homólogas de DNA. En la Figura 18-13 se presenta el modelo de recombinación general que se acepta en la actualidad. Este modelo, que se basa en las investigaciones de Robin Holliday en los hongos en 1964, comprende los siguientes pasos esenciales:

1. Apareamiento de dos moléculas homólogas de DNA.
2. Rotura de dos de las cadenas de DNA, una de cada molécula.
3. Entrecruzamiento de los dos segmentos de cadena mellados, formando un intermediario de Holliday.
4. La DNA ligasa sella los extremos cortados.
5. La migración de rama producida por el intercambio de apareamiento de bases conduce a la transferencia de un segmento de DNA de un homólogo al otro.
6. Se produce una segunda serie de cortes de cadenas de DNA.
7. La DNA polimerasa rellena los huecos y la DNA ligasa sella las cadenas cortadas.

Como suele ser frecuente, la mayoría de las investigaciones de la recombinación general se han realizado con bacterias. Determinadas mutaciones de *E. coli* las inicia la RecBCD, un complejo enzimático que posee actividades exonucleasa y helicasa. Tras unirse a una molécula de DNA, la RecBCD corta una de las cadenas y procede a desenrollar la doble hélice hasta que alcanza 5′-GCTGGTGG-3′ (el lugar Chi), una secuencia que se presenta frecuentemente en el DNA de *E. coli*. El intercambio lo realizan los monómeros de RecA, una ATPasa que recubre una de las cadenas. Impulsado por el ATP, el segmento de cadena recubierto por la RecA interacciona a continuación con un segmento cercano de DNA de doble hélice con una secuencia homóloga, formando así una triple hélice. La migración de rama (Fig. 18-14) se inicia al reconocer y unirse la RuvA a la unión de Holliday. Dos copias de la RuvB, un hexámero con actividades ATPasa y helicasa, forma a continuación un anillo en ambos lados de la unión. La migración de rama la cataliza el complejo RuvAB. Esta máquina molecular separa, gira y empuja las cadenas en los dos conjuntos de hélices, aun después de la disociación de la RecA. La migración finaliza cuando se alcanza una secuencia específica [5′-(A o T)TT(G o C)-3′]. Al soltarse la RuvAB, dos proteínas RuvC se vinculan a la unión. La recombinación finaliza al romper la RuvC las cadenas entrecruzadas y resolverse la estructura de Holliday a sí misma para formar dos moléculas distintas de DNA de doble hélice.

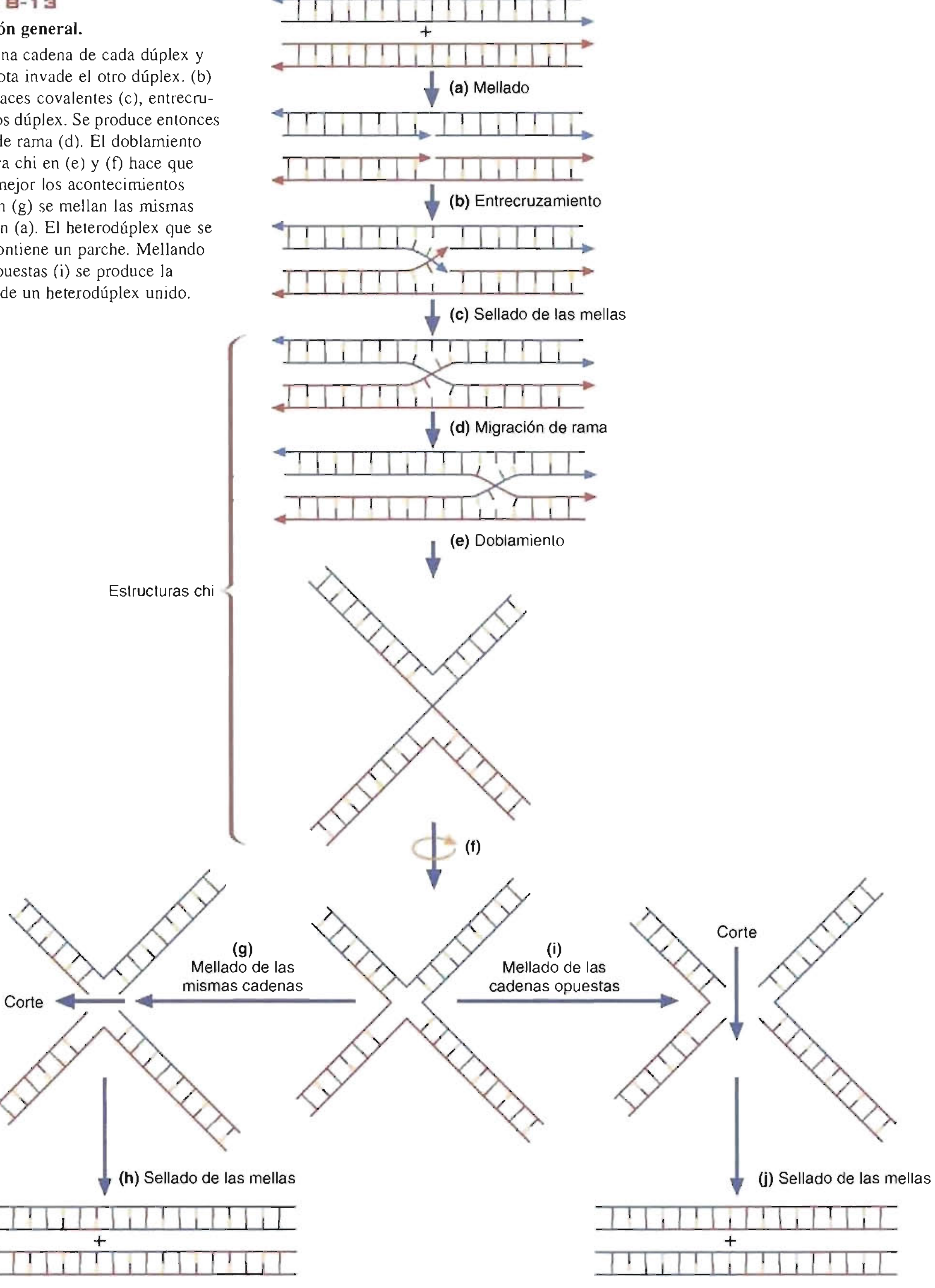
En las bacterias, la recombinación general parece participar en diversas formas de transferencia de DNA entre los microorganismos:

1. Transformación. En la **transformación**, los fragmentos desnudos de DNA entran en una célula bacteriana a través de una pequeña apertura en la pared celular y se introducen en el genoma bacteriano. (Recuerde el experimento de Fred Griffith, véase la pág. 572.)

FIGURA 18-13

Recombinación general.

(a) Se mella una cadena de cada dúplex y cada cadena rota invade el otro dúplex. (b) Se forman enlaces covalentes (c), entrecruzándose los dos dúplex. Se produce entonces la migración de rama (d). El doblamiento de la estructura chi en (e) y (f) hace que se entiendan mejor los acontecimientos posteriores. En (g) se mellan las mismas cadenas que en (a). El heterodúplex que se produce (h) contiene un parche. Mellando las cadenas opuestas (i) se produce la formación (j) de un heterodúplex unido.



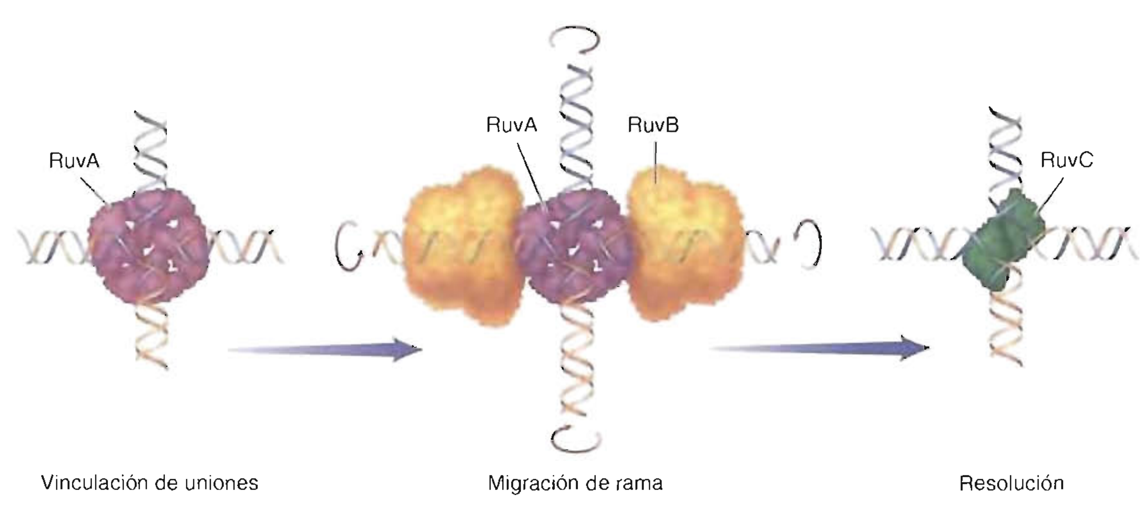


FIGURA 18-14

Modelo de la asociación de las proteínas Ruv con la unión de Holliday.
La Ruv A, un tetrámero, se vincula primero al punto de la unión de Holliday. Se forman en ambos lados del complejo DNA/RuvA dos anillos de RuvB hexaméricos con el DNA pasando a través de los anillos. La migración de rama se produce al impulsar la hidrólisis del ATP el giro de los dos anillos RuvB alrededor de las hélices de DNA en direcciones opuestas. Tras la migración de rama, la RuvA y la RuvB se sueltan y las dos proteínas RuvC se vinculan a la unión. La RuvC, una nucleasa, corta las cadenas entrecruzadas solucionando la estructura de Holliday.

2. **Transducción**. La **transducción** se produce cuando un bacteriófago de forma inadvertida transporta DNA bacteriano a una célula receptora. Tras una recombinación adecuada, la célula utiliza el DNA transducido.

3. **Conjugación**. Determinadas especies bacterianas se dedican a la **conjugación**, un acoplamiento sexual no convencional con una célula donadora y una célula receptora. La célula donadora posee un plásmido especializado que la permite sintetizar un pelo sexual, un apéndice filamentoso que actúa en un proceso de intercambio de DNA. (Recuerde que los plásmidos son pequeñas moléculas de DNA circular extracromosómico que se replican independientemente del cromosoma de la célula.) Tras unirse el pelo a la superficie de la célula receptora, se transfiere un fragmento del material genético del donador. El segmento de DNA transferido puede integrarse en el cromosoma del receptor mediante recombinación o puede permanecer fuera en forma de plásmido.

La recombinación general en los eucariotas se cree que es semejante al proceso de los procariotas. Se han descubierto varias proteínas eucariotas cuya estructura y función se parecen mucho a las observadas en *E. coli*. Por ejemplo, la RAD51, que se encuentra en hongos, realiza las mismas funciones que la RecA, esto es, repara las roturas de doble cadena.

PREGUNTA 18.6



La conjugación bacteriana tiene consecuencias médicas. Por ejemplo, determinados plásmidos contienen genes que codifican toxinas. El agente causal de una forma mortal de intoxicación alimentaria es una cepa de *E. coli* (*E. coli* 0157) que sintetiza una toxina que produce una diarrea sangrante masiva e insuficiencia renal. Esta toxina se cree que se ha originado en *Shigella*, otra bacteria que produce disentería. De forma similar, el problema creciente de la resistencia a los antibióticos es el resultado, en parte, de la diseminación de los genes de resistencia a los antibióticos entre las poblaciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos aparece debido a que se abusa de éstos en la práctica médica y en la alimentación del ganado. Sugiera un mecanismo por el que este abuso promueva la resistencia a los antibióticos. (*Pista*: El gran uso de los antibióticos actúa como una presión selectiva.)

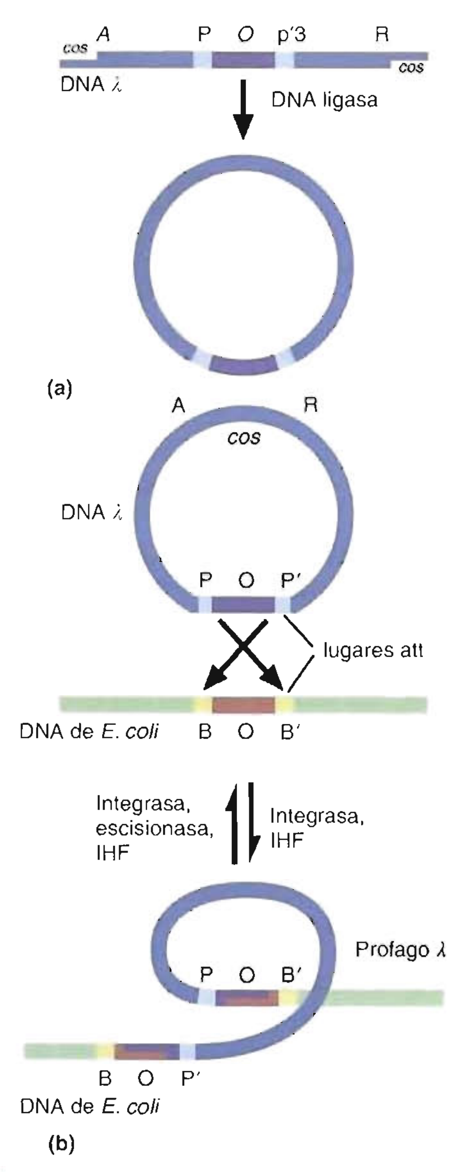


FIGURA 18-15

Inserción del genoma del bacteriófago λ en el cromosoma de *E. coli*.

(a) El DNA de λ forma un círculo al alinearse las secuencias cos de cadena sencilla. (b) La inserción se produce a través de una recombinación específica de lugar entre secuencias cortas del fago y de la bacteria que se denominan lugares de enganche (att).

RECOMBINACIÓN ESPECÍFICA DE LUGAR Como se ha mencionado, la recombinación específica de lugar depende más de las interacciones proteína-DNA que de la homología de secuencia DNA-DNA. Por ejemplo, la integración del bacteriófago λ en el cromosoma de *E. coli* (Fig. 18-15) sólo requiere secuencias cortas de reconocimiento. Una enzima vírica específica de lugar, que se denomina integrasa, es responsable, en gran medida, del impulso de este acontecimiento recombinatorio. La integrasa vírica, una topoisomerasa, realiza un corte escalonado en la doble cadena en secuencias cortas semejantes (que se denominan lugares de unión o *att*) en el DNA del virus y en el de la bacteria. El proceso de integración, que requiere la proteína bacteriana IHF, comporta la formación de una unión de Holliday. La resolución de la unión da lugar a la inserción del genoma de λ en el cromosoma bacteriano.

TRANSPOSICIÓN Barbara McClintock, una genetista que trabajaba con el maíz, comunicó en los años 1940 que determinados segmentos del genoma pueden

moverse de un lugar a otro. Debido a que se creía que los cromosomas constaban de genes en un orden fijo e invariable, hasta 1967 no se descubrieron en *E. coli* los elementos transponibles (o **transposones**), momento en el que los científicos comenzaron a entender que los genomas no eran tan fijos como habían pensado. (En reconocimiento a su contribución monumental a la genética, la Dra. McClintock recibió el Premio Nobel de fisiología o medicina en 1983.) Los transposones (que también se denominan «genes saltarines») se han observado en una gran variedad de organismos además de las bacterias, como por ejemplo, varios hongos, plantas y animales.

Varios transposones bacterianos, que se denominan elementos de inserción (elementos IS), constan sólo de un gen que codifica una enzima de transposición (una transposasa), flanqueado por segmentos cortos de DNA que se denominan repeticiones invertidas (Fig. 18-16). (Las repeticiones invertidas son palíndromos cortos.) Los elementos bacterianos transponibles más complicados, que se denominan transposones compuestos, contienen otros genes, varios de los cuales pueden codificar resistencia a los antibióticos. Debido a que los transposones pueden «saltar» entre cromosomas bacterianos, plásmidos y genomas víricos, se cree que las transposiciones desempeñan un papel importante en la diseminación de la resistencia a los antibióticos entre las bacterias.

Se han observado dos mecanismos de transposición:

1. **Transposición replicativa**. Durante la transposición una copia replicada se inserta en una localización nueva (lugar diana), dejando el transposón original en su lugar original (Fig. 18-16). En la transposición replicativa se forman intermediarios que se denominan formas cointegradas, que constan del segmento donador unido covalentemente al DNA que contiene el lugar diana. Otra enzima, que se denomina resolvasa, cataliza una recombinación específica de lugar que permite la resolución del cointegrado en dos moléculas separadas.
2. **Transposición arreplicativa**. Los elementos transponibles se eliminan de su lugar original (lugar donador) y se insertan en el lugar diana. Posteriormente, debe

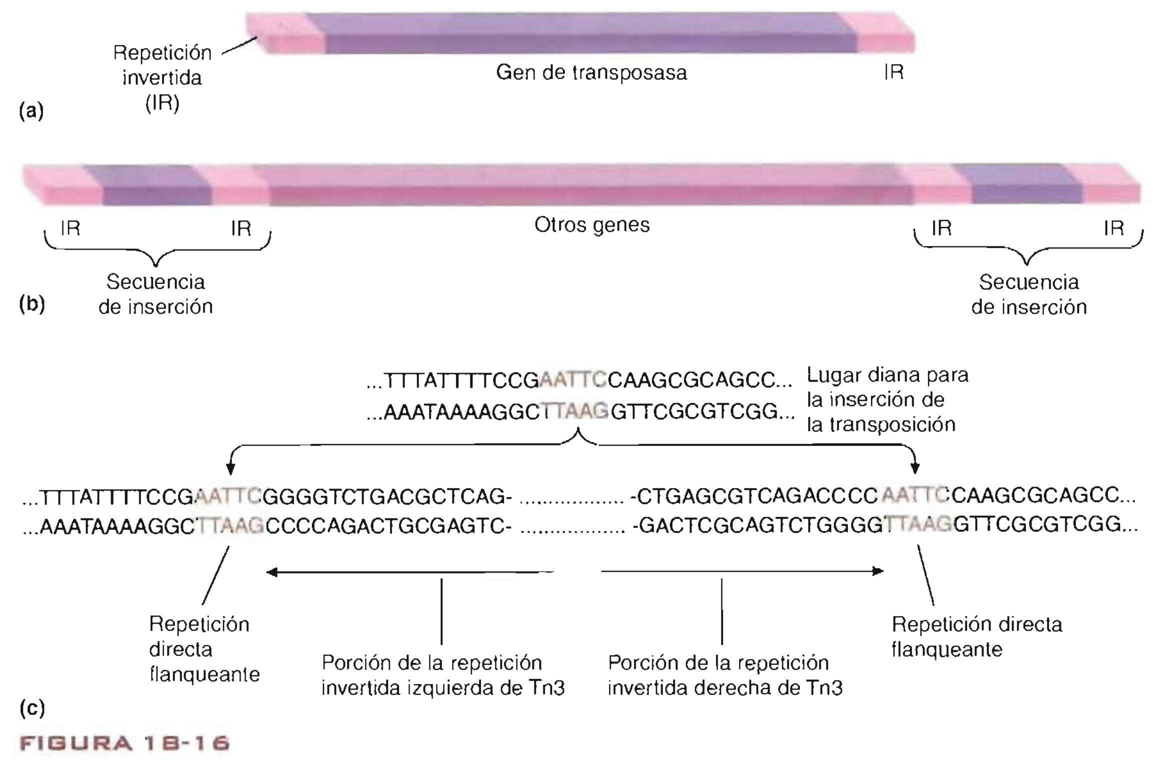


FIGURA 18-16

Elementos de inserción bacterianos.

(a) Una secuencia de inserción. (b) Un transposón compuesto. (c) Inserción de un transposón (Tn3) en el DNA bacteriano. El proceso de inserción implica la duplicación del lugar diana. (Véase también la Figura 18-17.)

repararse el lugar donador. Si no puede repararse por el sistema de reparación de DNA de la célula, las consecuencias serán letales.

Dependiendo de que la transposición sea replicativa o arreplicativa, se generan replicaciones cortas de los segmentos de DNA del lugar diana por rotura escalonada catalizada por la transposasa (Fig. 18-17).

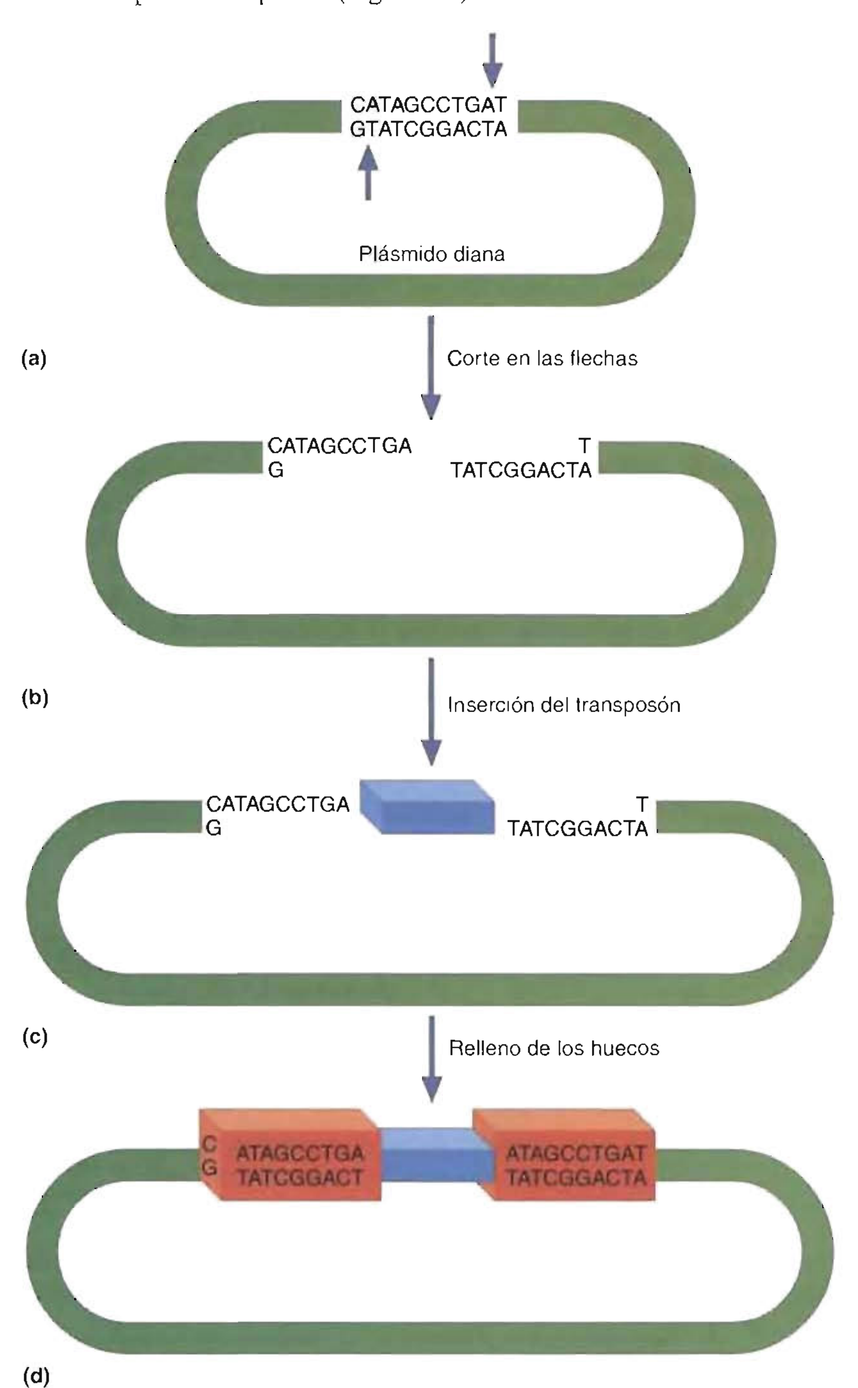


FIGURA 18-17

Formación de secuencias duplicadas del lugar diana durante la transposición.

(a) Se corta el DNA del hospedador (véase la flecha) de una forma escalonada (b). (c) El transposón (azul) está unido covalentemente a ambos extremos de una cadena del DNA del hospedador. (d) Tras rellenar los huecos mediante una actividad DNA polimerasa, hay nueve repeticiones de pares de bases del DNA del hospedador (rojo) que flanquean al transposón.

Algunos transposones de los eucariotas se parecen a los de las bacterias. Por ejemplo, el elemento Ac, el transposón del maíz que fue descrito por vez primera por McClintock, está compuesto por un gen de transposasa flanqueado por repeticiones invertidas cortas. (McClintock se refirió al transposón Ac como un «elemento controlador» debido a que parecía controlar la síntesis del pigmento antocianina en los frutos del maíz.) Sin embargo, otros muchos transposones eucariotas tienen estructuras algo diferentes que las observadas en las bacterias. En lugar de repeticiones invertidas, muchos transposones eucariotas, como el transposón Ty de levaduras, poseen repeticiones terminales largas (LTR), que a veces se denominan repeticiones delta. Más importante, los mecanismos de transposición de Ty y muchos otros transposones eucariotas utilizan un RNA intermediario y portan una semejanza notable con la fase replicativa del ciclo de vida de los retrovirus. Ty contiene genes para una transcriptasa inversa y una RNasa H, así como otros genes que se requieren para su transcripción inversa y su integración en el DNA diana. Debido a que los así llamados retrotransposones carecen de los genes que se requieren para sintetizar una cubierta, sólo pueden moverse dentro del genoma, es decir, no pueden salir como lo hacen los retrovirus.

El movimiento de los transposones dentro de un genoma puede producir diversos cambios genéticos. La inserción y la escisión de los transposones suelen producir duplicaciones, inversiones y deleciones. Dependiendo de los cambios y de su localización, los efectos de los transposones pueden ser rompedores y dañinos o proveedores de oportunidades de diversidad genética. Algunos efectos de la transposición se observan en forma de cambios de la expresión de los genes, un tema que se considera en la Sección 18.3

CONCEPTOS CLAVE 18.3

En la recombinación general, el intercambio de secuencias de DNA tiene lugar entre secuencias homólogas. En la recombinación específica de lugar, las interacciones DNA-proteína son las responsables principales del intercambio de secuencias no homólogas.

PREGUNTA 18.7

Describa las diferencias entre recombinación general, recombinación específica de lugar y transposición.

PREGUNTA 18.8

Defina los siguientes términos:

a. transposición
b. conjugación
c. transducción
d. transformación
e. transposón

PREGUNTA 18.9

Uno de los aspectos fascinantes de los organismos complejos como los mamíferos es la existencia de familias de genes (grupos de genes que codifican la síntesis de un conjunto de proteínas muy relacionadas). Por ejemplo, se requieren varios tipos diferentes de colágenos para que los tejidos conjuntivos tengan la estructura y función adecuadas. De forma similar, existen varias clases de genes de la globina. Se cree que las familias de genes se originan a partir de un acontecimiento poco habitual en el que se duplica una secuencia de DNA. Algunas duplicaciones de genes proporcionan una ventaja selectiva al aportar grandes cantidades de productos génicos. En otros, los dos genes duplicados evolucionan de manera independiente. Una copia continúa realizando la misma función, mientras que la otra finalmente evoluciona para realizar otra función. ¿Puede especular sobre la forma en que se producen las duplicaciones génicas? Una vez que un gen se ha duplicado, ¿qué mecanismos introducen las variaciones?

 Genómica

En los últimos años, las ciencias biológicas han experimentado un enorme cambio intelectual y experimental creado por la secuenciación de los genomas de docenas de especies, incluido el ser humano. Esta nueva riqueza informativa que proporciona la **genómica** (el análisis a gran escala de los genomas completos) mantiene la promesa no sólo de descubrimientos sin precedentes en los funcionamientos internos de los seres vivos, sino también de capacidades previamente inimaginables acelerar la investigación en todas las áreas de interés para el ser humano (p. ej., salud y enfermedad, biodiversidad y agricultura). Sin embargo, las determinaciones de la estructura e identidad de los genes en los seres vivos no nos dice nada sobre su forma de funcionar. El objetivo de la ciencia recién surgida, la **genómica funcional**, es entender cómo funcionan juntas las biomoléculas dentro de los organismos funcionales. Actualmente, los intentos por llenar este hueco del conocimiento comporta diversas tecnologías nuevas del «genoma completo». Por ejemplo, los chip de DNA (soportes de vidrio o plástico que llevan micromatrices de diferentes secuencias sonda de DNA) hacen actualmente posible el análisis simultáneo de la expresión de miles de genes en células en cultivo. A continuación se describen las herramientas básicas que se utilizan en la tecnología genómica.

El aislamiento, la caracterización y la manipulación de las secuencias de DNA, que en la actualidad se consideran un lugar común, es posible gracias a un conjunto de técnicas que se denomina **tecnología del DNA recombinante**. La característica esencial de esta tecnología es que las moléculas de DNA que se obtienen de diversos orígenes pueden cortarse y pegarse juntas. Estas técnicas han revolucionado la biología y la bioquímica debido a que han hecho más accesibles que nunca las investigaciones sobre los genomas. Por ejemplo, el gran número de copias de DNA que se requieren en los métodos de secuenciación de DNA se han obtenido mediante clonación molecular y (más recientemente) por la reacción en cadena de la polimerasa. Las aplicaciones comerciales de las técnicas de DNA recombinante han revolucionado la práctica médica. Por ejemplo, los productos de los genes humanos, como la insulina y la hormona del crecimiento, así como determinadas vacunas y pruebas diagnósticas, se producen actualmente en grandes cantidades por células bacterianas en las que se han insertado genes recombinantes. Actualmente, varios grupos están investigando la utilización de las técnicas recombinantes en la terapia génica humana, un proceso en el que (se espera) puedan sustituirse los genes defectuosos por sus correspondientes normales.

La Figura 18A ilustra las características básicas de la construcción de un DNA recombinante. El proceso comienza utilizando una enzima de restricción (Métodos Bioquímicos 17.1) que genera extremos cohesivos para romper el DNA de dos orígenes diferentes. Los fragmentos de DNA se mezclan posteriormente en condiciones que permiten el alineamiento (apareamiento de bases) entre los extremos cohesivos. Una vez que se ha producido el apareamiento de bases, los fragmentos se unen covalentemente mediante la DNA ligasa. Tras aislar y purificar las moléculas de DNA recombinante, normalmente es necesario reproducirlas, de forma que se obtengan cantidades suficientes para la investigación. A continuación se presenta la clonación molecular, un método que se utiliza frecuentemente para aumentar el número de copias de DNA.

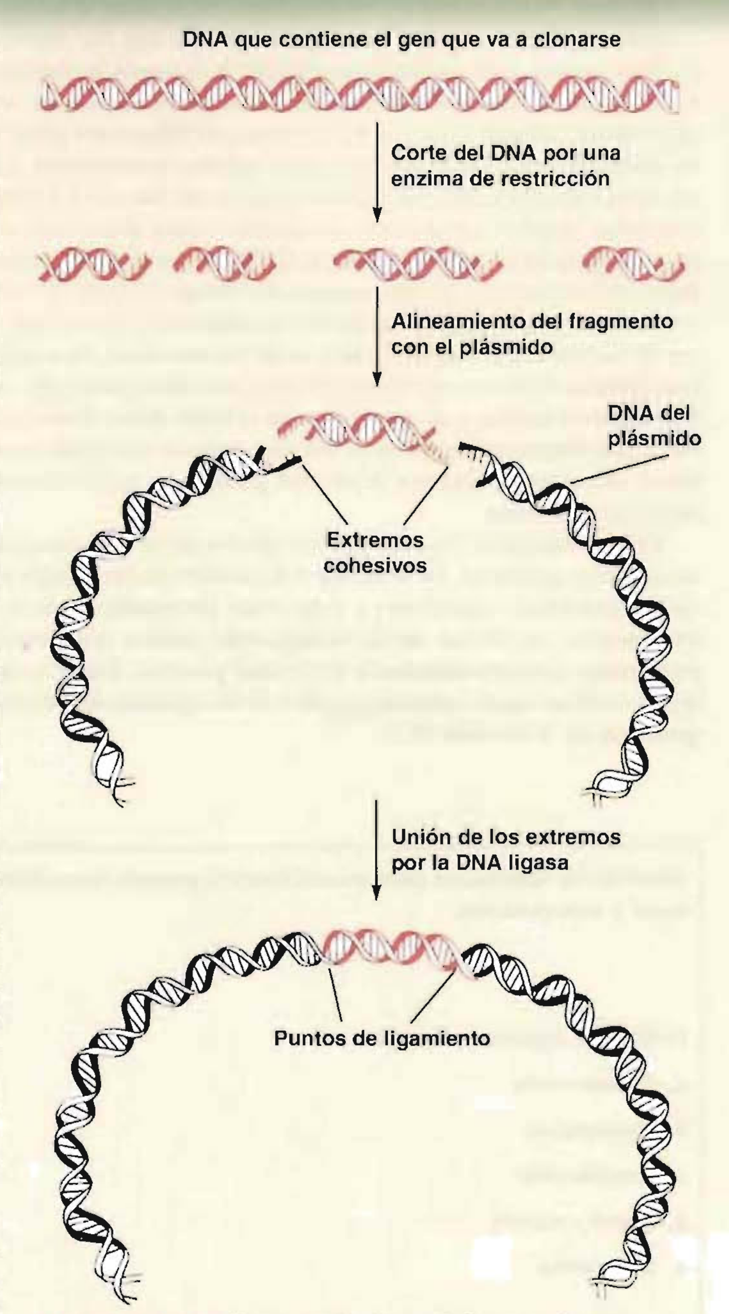


FIGURA 18A Construcción de un DNA recombinante. Las moléculas de DNA recombinante se crean tratando el DNA de dos orígenes con enzimas de restricción. En condiciones de hibridación, los fragmentos de DNA con extremos cohesivos se alinean juntos. Una vez producido el apareamiento de bases, la DNA ligasa junta los fragmentos.

Clonación molecular

En la clonación molecular, un trozo de DNA aislado de una célula donadora (p. ej., cualquier célula animal o vegetal) se introduce en un vector. Un **vector** es una molécula de DNA capaz de replicarse que se utiliza para transportar una secuencia ajena de DNA, a menudo un gen, dentro de una célula hospedadora.

La elección del vector depende del tamaño del DNA donador. Por ejemplo, los plásmidos bacterianos suelen utilizarse para clonar pequeños trozos (15 kb) de DNA. Los trozos algo más grandes (24 kb) se incorporan en vectores bacteriófagos λ, mientras que los vectores

cósmidos se utilizan para los fragmentos de DNA de hasta 50 kb. El bacteriófago λ puede utilizarse como vector debido a que una porción sustancial de su genoma no codifica la producción de fago y por lo tanto puede eliminarse. El DNA vírico eliminado puede sustituirse por DNA ajeno. Los **cósmidos** son vehículos de clonación que contienen lugares cos del bacteriófago λ incorporados en secuencias de DNA del plásmido con uno o varios marcadores seleccionables. Los lugares *cos* permiten su entrega a la célula hospedadora en una cabeza de fago, el DNA del plásmido facilita la replicación independiente de la unidad recombinada y los marcadores seleccionables permiten la selección de los recombinantes que han tenido éxito. Pueden insertarse trozos aún mayores en cromosomas artificiales bacterianos y cromosomas artificiales de levaduras. Los **cromosomas artificiales bacterianos** (BAC), que proceden de un gran plásmido de *E. coli* que se denomina factor F, se utilizan para clonar secuencias de DNA de hasta 300 kb. Los **cromosomas artificiales de levaduras** (YAC), que pueden acomodar hasta 1000 kb, se construyen utilizando secuencias de DNA de levaduras que se replican de forma autónoma (contienen un origen de replicación de DNA eucariota).

Como se ha indicado antes, la formación de un DNA recombinante requiere una enzima de restricción, que corte el DNA vector (p. ej., plásmido) y lo abra (Fig. 18B). Tras alinear los extremos cohesivos del plásmido con los del DNA donador, una actividad DNA ligasa une covalentemente las dos moléculas. Posteriormente, el vector recombinante se inserta en las células hospedadoras.

En algunas circunstancias, la introducción de un vector de clonación en una célula hospedadora es un proceso trivial. Por ejemplo, los vectores fago se diseñan de forma que introducen el DNA recombinante en un proceso infectivo que se denomina **transfección**, y algunas bacterias captan los plásmidos sin ayuda. Sin embargo, la mayoría de las células hospedadoras deben inducirse para que capten el DNA ajeno. Se utilizan varios métodos. En algunas células procariotas y eucariotas la adición de calcio al medio promueve la captación. En otras, se utiliza un proceso que se denomina **electroporación**, en el que las células se tratan con una corriente eléctrica. Uno de los métodos más eficaces para transformar las células animales y vegetales es la microinyección directa del material genético. Por ejemplo, los **animales transgénicos** se crean por la microinyección de un DNA recombinante en óvulos fertilizados.

Una vez introducido, cada clase de célula replica el DNA recombinante junto con su propio genoma. Obsérvese que los vectores recombinantes deben contener regiones reguladoras que reconozcan las enzimas de la célula hospedadora.

Al proliferar las células hospedadoras que han sido transformadas con éxito, amplifican rápidamente el DNA recombinante. Por ejemplo, en condiciones favorables de disponibilidad de nutrientes y temperatura, un único plásmido introducido en una célula de *E. coli* puede replicarse 1000 millones de veces en unas 11 horas. Sin embargo, las células transformadas y sin transformar normalmente tienen aspectos idénticos. (En la Figura 18C se da un ejemplo de una excepción a esta regla.) Por consiguiente, los investigadores suelen diseñar los protocolos de clonación utilizando vectores con **genes marcadores** selec-

(continúa en la página 632)

1. Aislamiento del DNA
2. Utilizar una enzima de restricción para generar fragmentos de DNA
3. Tras separar los fragmentos de DNA, cada uno de ellos puede utilizarse para generar una molécula recombinante
4. Introducir la molécula recombinante en el nuevo hospedador

Vector

Vector lineal

Nuevo hospedador

FIGURA 18B Clonación del DNA.
En el proceso de clonación, cada clon se produce introduciendo una molécula recombinante en una célula hospedadora, la cual replica el vector junto con su propio genoma.

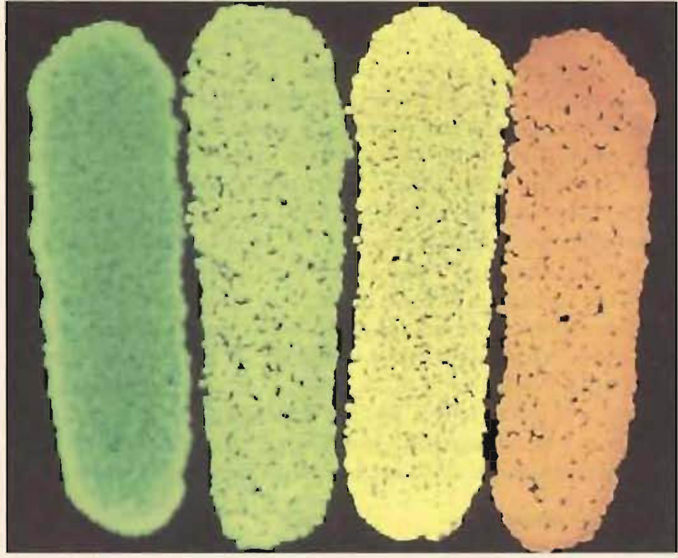


FIGURA 18C Cuatro colonias recombinantes de *E. coli*, cada una de las cuales tiene una variante diferente del gen de la luciferasa.
La luciferasa es una enzima que se encuentra en organismos como las luciérnagas, los moluscos y otros peces de las profundidades marinas. Cuando se encuentra en presencia de ATP y luciferina, la luciferasa cataliza una reacción que emite luz. (Las luciferinas son un grupo de compuestos bioluminiscentes que emiten luz cuando los oxida el O_2 en una reacción catalizada por una luciferasa.)

cionables (genes cuya presencia puede detectarse), de forma que puedan identificar fácilmente a las células transformadas. Por ejemplo, los genes de resistencia a los antibióticos normalmente se incorporan en los vectores plásmidos que se introducen en las bacterias. Cuando las bacterias tratadas se siembran en un medio que contiene el antibiótico, sólo crecerán las células transformadas. Con las células eucariotas como las levaduras, pueden utilizarse células que carecen de una enzima que se requiere para sintetizar un nutriente. Por ejemplo, para transformar las células de levadura mutantes que carecen de una enzima específica de la ruta de biosíntesis de leucina se utilizan los vectores que contienen el gen LEU2. Sólo aquellas células que se han transformado con éxito son capaces de crecer en un medio con déficit de leucina.

En otra estrategia, que se denomina **técnica de hibridación de colonias** (Fig. 18D), las bacterias se detectan utilizando una sonda de ácido nucleico marcada radiactivamente, una molécula de RNA o una molécula de DNA de cadena sencilla con una secuencia complementaria a la de una secuencia específica dentro del DNA recombinante. Las células bacterianas se siembran en un medio sólido en placas de Petri y se permite que crezcan en colonias. Cada placa se transfiere a un filtro de nitrocelulosa. (La mayoría de las colonias originales permanecen sobre las placas de Petri.) Las células sobre el filtro de nitrocelulosa se lisan y el DNA liberado se trata de forma que pueda producirse la hibridación con la sonda. Una vez eliminadas por lavado las moléculas de sonda que no han hibridado, se utiliza la autorradiografía (Métodos Bioquímicos 2.1) para identificar las colonias en la placa maestra que posee el DNA recombinante.

Reacción en cadena de la polimerasa

Aunque la clonación ha sido inmensamente útil en biología molecular, la **reacción en cadena de la polimerasa** (PCR) es un método más conveniente para obtener grandes cantidades de copias de DNA. Utilizando la DNA polimerasa termosensible de *Thermus aquaticus* (polimerasa Taq), la PCR puede amplificar cualquier secuencia de DNA, cuando se conocen las secuencias flanqueantes (Fig. 18E). Las secuencias flanqueantes deben conocerse debido a que la amplificación PCR requiere cebadores. Las secuencias cebadoras se producen mediante máquinas automáticas sintetizadoras de DNA.

La PCR comienza al añadir la polimerasa Taq, los cebadores y los ingredientes para la replicación del DNA a una muestra calentada del DNA diana. (Recuerde que el calentamiento del DNA separa sus cadenas.) Al enfriarse la muestra, los cebadores se unen a sus secuencias complementarias en ambos lados de la secuencia diana. Cada cadena sirve como molde para la replicación del DNA. Al final de este proceso, que se denomina un *ciclo*, las copias de la secuencia diana se han duplicado. El proceso puede repetirse de forma indefinida, sintetizando un número extraordinario de copias. Por ejemplo, al final de 30 ciclos un único fragmento de DNA se ha amplificado 1000 millones de veces.

Bibliotecas genómicas

Las bibliotecas genómicas son colecciones de clones que proceden de fragmentos de cromosomas o genomas enteros. Se utilizan con diversos fines, los más importantes de los cuales son el aislamiento de genes específicos cuya localización cromosómica se desconozca y los esfuerzos secuenciadores de los genomas (cartografiado de los genomas). Las bibliotecas genómicas se producen en un proceso, que se denomina **clonación por escopetazo**, en el que se digiere de forma aleatoria un genoma (Fig. 18F). El intervalo de tamaño de los fragmentos, que se determina por la clase de enzima de restricción y las condiciones experimentales elegidas, debe ser compatible con el vec-

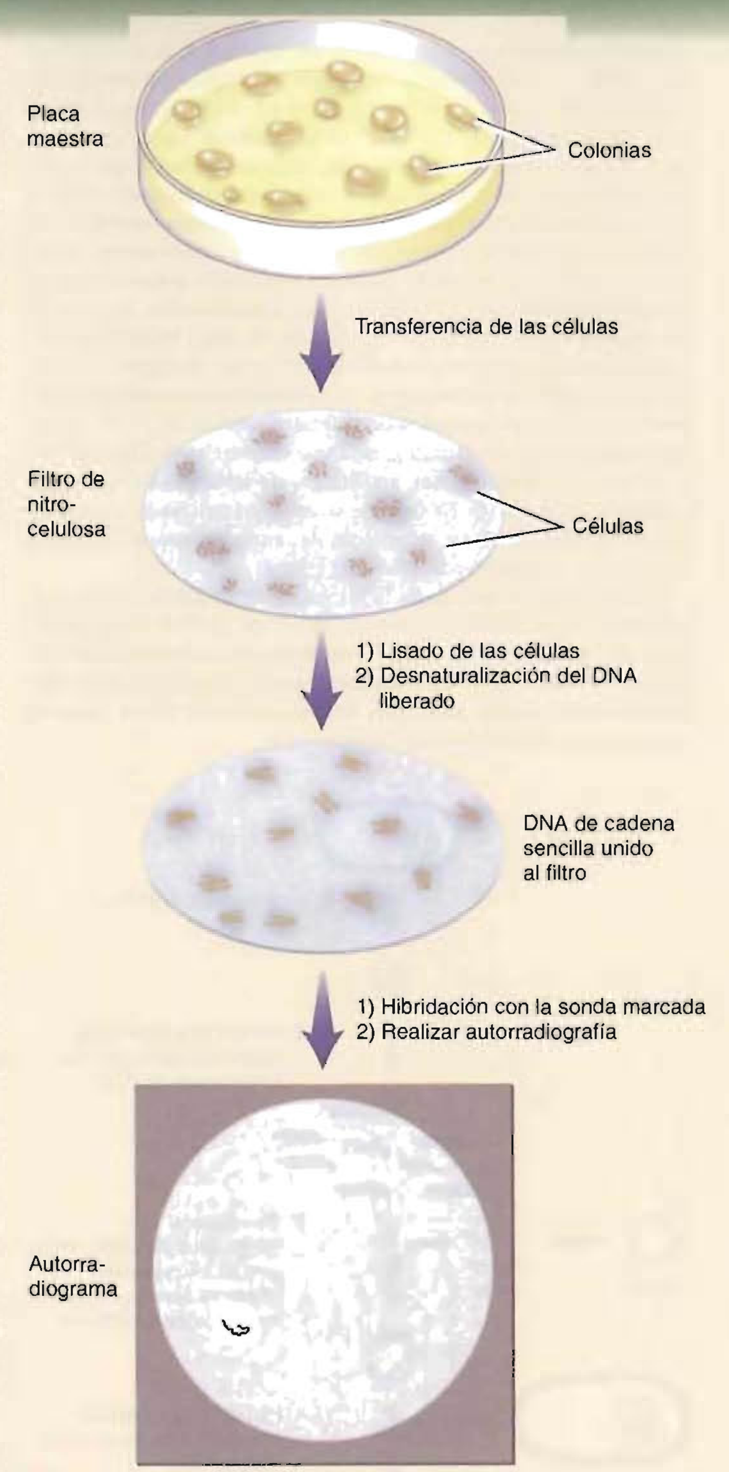


FIGURA 18D Hibridación de colonias.
Las células bacterianas se siembran en un medio sólido que sólo permite el crecimiento de las células transformadas. Una vez que las colonias se han hecho visibles, la placa se transfiere a un filtro de nitrocelulosa. Las células que se agarran al filtro se lisan y el DNA que se libera se desnaturaliza y se desproteiniza. Tras añadir una sonda marcada, las moléculas de la sonda que no han hibridado se eliminan mediante lavado. Las células que poseen secuencias de DNA que hibridan con la sonda se identifican comparando el autorradiograma del filtro con un patrón.

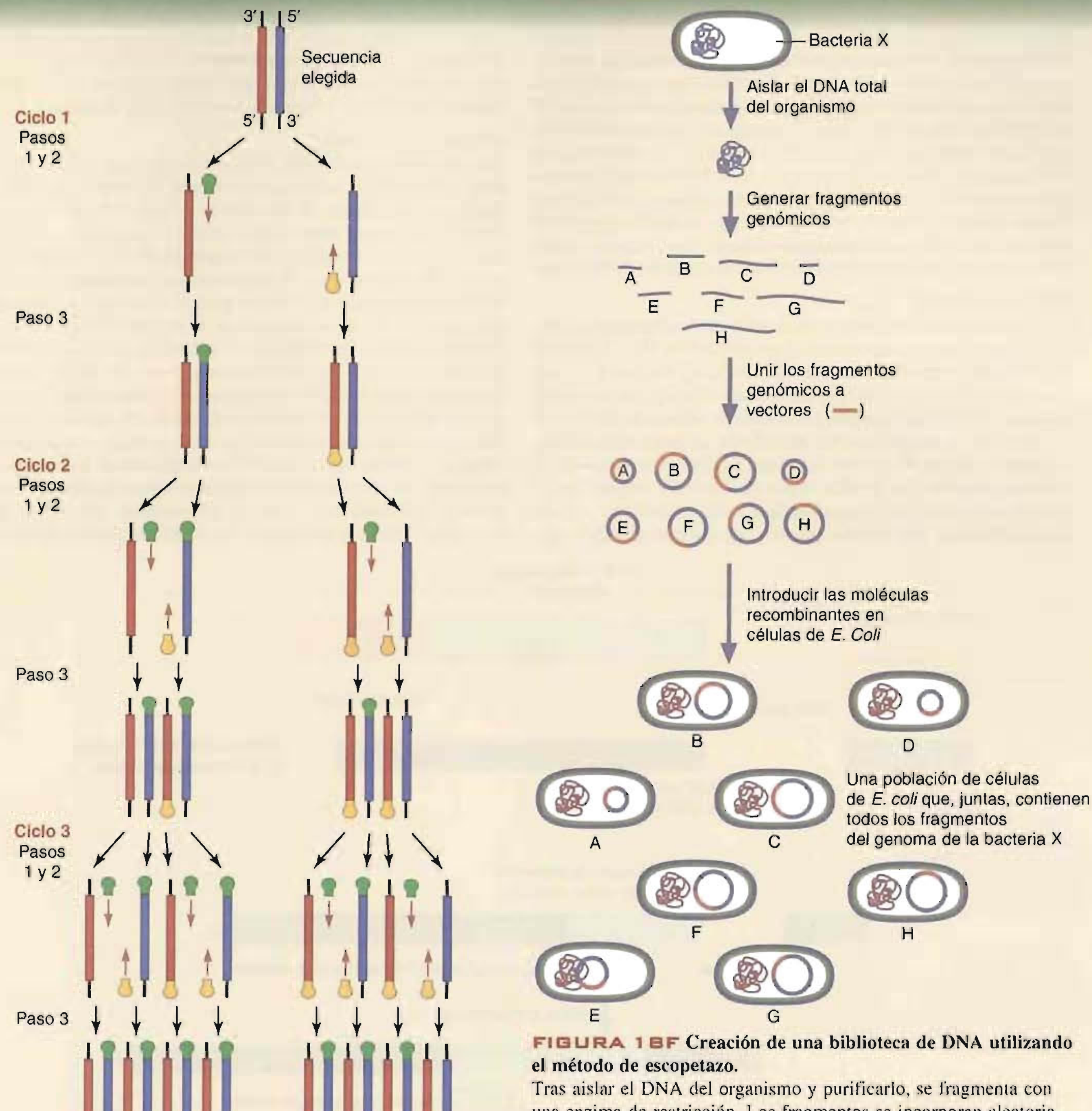


FIGURA 18E Reacción en cadena de la polimerasa.
Una única molécula de DNA puede amplificarse millones de veces repitiendo un ciclo de tres pasos. En el primer paso, el dsDNA de la muestra se desnaturaliza por calentamiento a 95 °C. En el paso 2 se baja rápidamente la temperatura hasta 50 °C y se añade un oligonucleótido cebador. El cebador hibrida con las secuencias complementarias de los extremos de las dos cadenas. Durante el paso 3, se produce la síntesis de DNA al aumentar la temperatura hasta 70 °C, la temperatura óptima de la polimerasa Taq. Se repite luego el ciclo en el que actúan como moldes las cadenas viejas y las nuevas.

FIGURA 18F Creación de una biblioteca de DNA utilizando el método de escopetazo.
Tras aislar el DNA del organismo y purificarlo, se fragmenta con una enzima de restricción. Los fragmentos se incorporan aleatoriamente en vectores y las moléculas recombinantes se introducen en células como *E. coli*. La colección de estas células se denomina biblioteca genómica.

tor. Para asegurar que todas las secuencias de interés están representadas en la biblioteca, se suelen digerir sólo parcialmente algunas muestras de DNA. Si se dispone de una sonda adecuada puede identificarse la localización de un gen.

En una variante de las bibliotecas genómicas, las bibliotecas clónicas de moléculas DNA complementario (cDNA), denominadas **bibliotecas de cDNA**, se producen a partir de moléculas de mRNA me-

(continúa en la página 634)

diante transcripción inversa. Esta técnica puede utilizarse para evaluar el transcriptoma de determinados tipos celulares en circunstancias especificadas. En otras palabras, es un método para determinar los genes que se expresan en un determinado tipo celular. Por ejemplo, con el uso de la tecnología de chips de DNA, puede investigarse y compararse la expresión de los genes en célula normales y enfermas. Las bibliotecas de cDNA son especialmente útiles cuando se clona DNA eucariota debido a que las moléculas de mRNA no contienen secuencias no codificantes o intrones. Por consiguiente, los productos de los genes pueden identificarse con mayor facilidad y pueden generarse en bacterias, que no pueden procesar los intrones, cantidades importantes de los productos de los genes.

Paseo cromosómico

Esta técnica permite la secuenciación de fragmentos solapantes de DNA de 20 a 40 kb a partir de las bibliotecas genómicas (Fig. 18G). Utilizando una sonda marcada radiactivamente, se identifican y analizan los clones que contienen la secuencia complementaria y cualesquiera secuencias contiguas. Este proceso se repite posteriormente utilizando como sonda el extremo de la secuencia recién identificada. El paseo cromosómico continúa en ambas direcciones hasta que finalmente se secuencia la molécula completa o se localiza el gen de interés. El conjunto de secuencias solapantes se denomina **contig**. Cuando se analizan los genomas eucariotas, su gran tamaño suele requerir el uso de grandes vectores de clonación como los YAC y una técnica que se denomina salto cromosómico. En el **salto cromosómico** los clones solapantes contienen secuencias de DNA de varios centenares de kb que se generan utilizando enzimas de restricción con cortes poco frecuentes.

Micromatrices de DNA

Las **micromatrices de DNA**, o «chips» de DNA, se utilizan para analizar la expresión de miles de genes simultáneamente (Fig. 18H). Con frecuencia, del tamaño de un sello de correos, una micromatriz de DNA es un soporte sólido, como un vidrio o un plástico, al que se unen centenares o millares de oligonucleótidos o fragmentos de ssDNA. En cada posición de la micromatriz la secuencia unida, que actúa como una sonda de DNA, se diseña de forma que hibride con un gen específico. En las investigaciones de la expresión de los genes, un conjunto completo de moléculas de mRNA de las células de interés (el transcriptoma) se transcribe de forma inversa en cDNA. Tras marcar las moléculas de cDNA con un compuesto fluorescente, se incuban con una micromatriz en condiciones de hibridación. La micromatriz se lava a continuación para eliminar las moléculas que no han hibridado. Utilizando microscopios, tubos fotomultiplicadores y programas de ordenador, los investigadores pueden determinar los genes que se expresan identificando la posición en la micromatriz que produce fluorescencia. Utilizando esta técnica los científicos pueden observar las

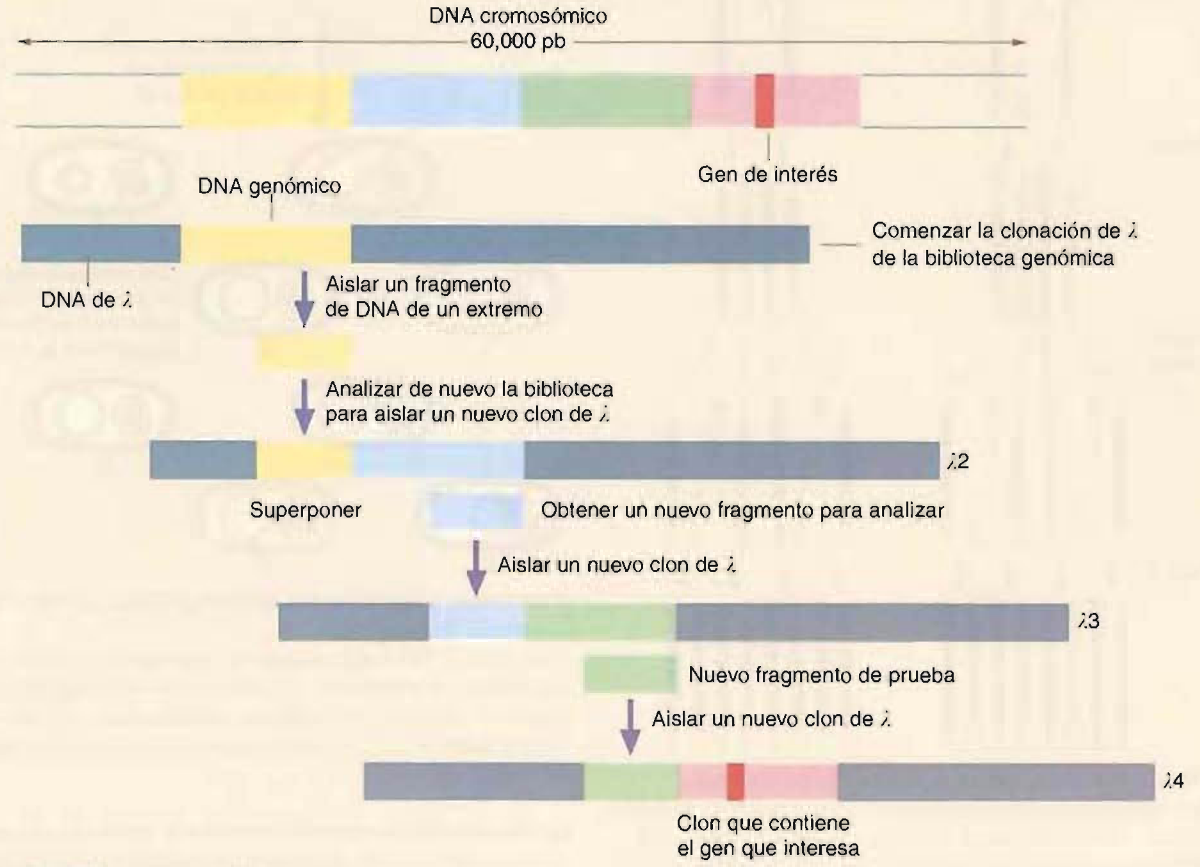


FIGURA 18G Paseo cromosómico.
En el paseo cromosómico, los clones de DNA que contienen secuencias solapantes se identifican sistemáticamente. A continuación pueden cartografiarse y secuenciarse. También pueden buscarse genes desconocidos. El proceso comienza cuando el DNA se fracciona en trozos y se clona. (En este ejemplo se utilizan vectores del bacteriófago λ). Un extremo del clon de partida se marca y se utiliza como sonda para identificar el clon en la biblioteca λ que contiene la secuencia y una secuencia adyacente. Repitiendo este paso, el extremo del segundo clon se marca y se utiliza para identificar otro clon solapante. El proceso continúa hasta que se obtiene una colección de clones que juntos contienen todas las secuencias del fragmento original de DNA.

variaciones de la expresión de los genes en diversas circunstancias. Entre los ejemplos están las comparaciones de las células normales y cancerosas, y las células expuestas a diferentes nutrientes o moléculas señalizadoras.

Proyectos Genoma

El Proyecto Genoma Humano supone un esfuerzo internacional intenso para determinar la secuencia de nucleótidos del genoma humano completo. Una vez alcanzado este objetivo, la atención de los investigadores se está desviando hacia la **anotación** (identificación funcional) de los 30 000 genes humanos. Igual que los científicos han utilizado históricamente las comparaciones estructurales y funcionales de otros organismos en campos como la anatomía, la bioquímica, la fisiología y la medicina para comprender mejor la biología humana, el esfuerzo actual para interpretar los datos del genoma humano está siendo complementado inmensamente por las comparaciones con la información obtenida en otros proyectos genoma. Los genomas de organismos bien conocidos tan diversos como las bacterias (p. ej., *E. coli*), las levaduras (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*), el gusano *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila* y varios mamíferos (p. ej., el ratón) se han utilizado en el análisis de la estructura del genoma y en la asignación de los genes recién descubiertos en otros organismos.

Cuando se descifra un genoma, no importa el tipo de organismo del que provenga, en su análisis hay tres pasos básicos:

1. **Cartografiado de ligamiento genético.** Durante la mayor parte del siglo XX los genetistas han construido mapas cromosómicos de organismos seleccionados analizando frecuencias de recombinación procedentes de cruzamientos genéticos. En el ser humano, los datos de recombinación genética utilizados para determinar las relaciones físicas y las distancias relativas de los genes en los cromosomas se obtuvieron analizando los árboles genealógicos de grandes familias. Se han utilizado los mapas de baja resolución obtenidos a partir del cartografiado genético como una red para analizar los datos que se obtienen a partir de métodos más sofisticados.
2. **Cartografiado físico de los genomas.** Los mapas físicos se obtienen fraccionando el DNA cromosómico de los organismos de interés con una enzima de restricción. Cada fragmento de DNA posteriormente se clona. Se determina el orden de los fragmentos en el cromosoma utilizando sondas construidas a partir de marcadores conocidos en un mapa de ligamiento genético de baja resolución. El proceso se repite con otras enzimas de restricción de forma que puedan resolverse las ambigüedades de los datos.
3. **Secuenciación del DNA.** Se secuencian los fragmentos individuales clonados del cromosoma completo o del genoma. Para hacer esta hazaña factible, se ha automatizado la secuenciación del DNA (Métodos Bioquímicos 17.1). La secuencia de nucleótidos de un genoma completo se determina ligando los resultados de los experimentos de secuenciación de clones solapantes.

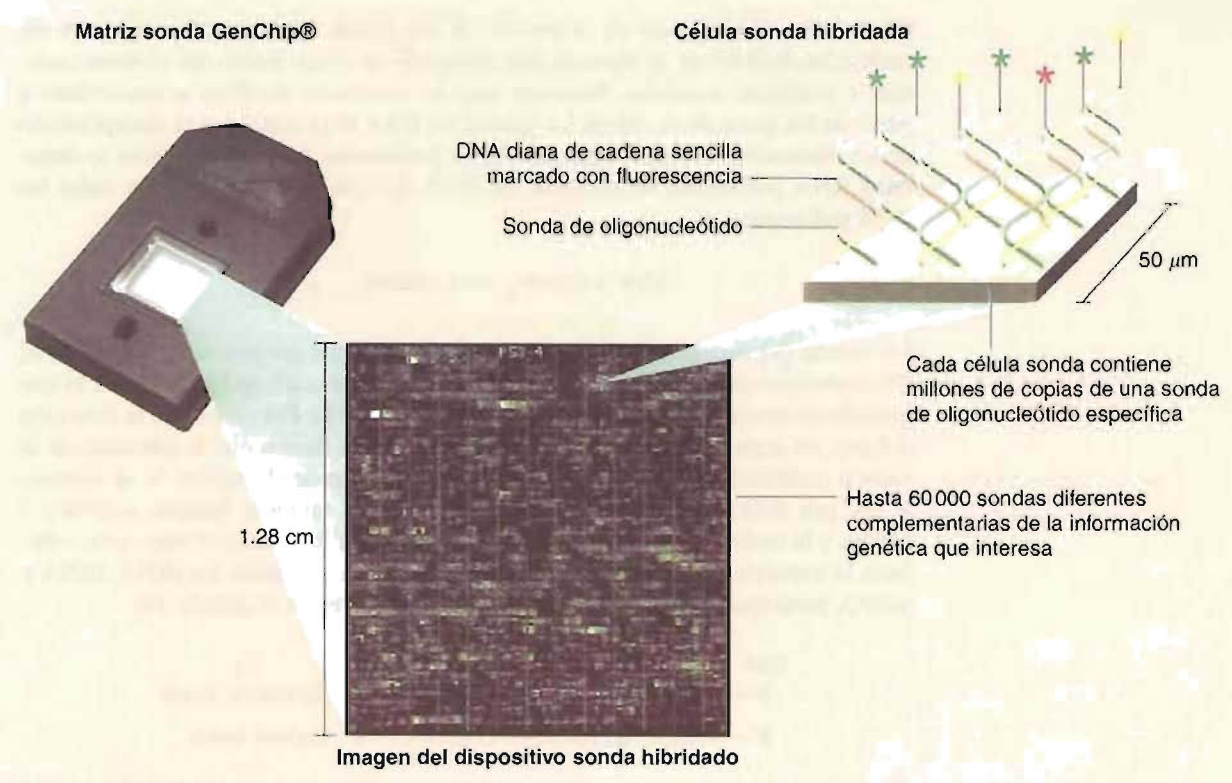


FIGURA 18H

Tecnología de micromatrices de DNA.

Las micromatrices de DNA pueden utilizarse para determinar los genes que se expresan en un tipo celular específico debido a que cada «chip» puede acomodar desde miles a millones de sondas de DNA. (Las sondas de oligonucleótidos se sintetizan sobre la superficie del chip utilizando técnicas fotolitográficas semejantes a las que se emplean en la fabricación de los chip de los ordenadores.) La micromatriz se incuba en condiciones de hibridación con cDNA marcado con fluorescencia. Las moléculas de cDNA proceden de los mRNA extraídos de las células que interesan.

PREGUNTA 18.10 Explique la utilización de genes marcadores en la clonación.

PREGUNTA 18.11 Exponga brevemente los principios básicos de la PCR. Calcule el grado de amplificación que se alcanza mediante 15 ciclos de PCR.

PREGUNTA 18.12 Describa cómo se generan las bibliotecas genómicas. ¿En qué se diferencian de las bibliotecas de cDNA.

PREGUNTA 18.13 ¿Qué son los «chips» de DNA? Describa ejemplos de los tipos de información que su utilización puede proporcionar a los investigadores.

PREGUNTA 18.14 Defina los siguientes términos:
a. clonación de escopetazo
b. cromosomas artificiales bacterianos
c. electroporación
d. vector
e. tecnología del DNA recombinante

18.2. TRANSCRIPCIÓN

Como todos los aspectos de la función de los ácidos nucleicos, la síntesis de las moléculas de RNA es un proceso muy complejo en el que participan diversas enzimas y proteínas asociadas. Recuerde que las moléculas de RNA se transcriben a partir de los genes de la célula. La síntesis de RNA se produce por la incorporación de los ribonucleótidos que cataliza la RNA polimerasa, que algunas veces se denomina RNA polimerasa dependiente de DNA. La reacción que catalizan todas las RNA polimerasas es

$$\text{NTP} + (\text{NMP})_n \longrightarrow (\text{NMP})_{n+1} + \text{PP}_i$$

La cadena (+) o más, que no es molde, tiene la misma secuencia de bases que el RNA producto de la transcripción (excepto por la sustitución de U por T), por lo que también se denomina **cadena codificadora** (Fig. 18-18). Por convenio, la dirección del gen, un segmento de DNA de doble cadena, es la misma que la dirección de la cadena codificadora. La polimerización tiene lugar desde el extremo 5′ al extremo 3′ del gen debido a que la cadena molde de DNA, también llamada cadena (−) menos, y la molécula de RNA recién sintetizada son antiparalelas. Como se ha señalado, la transcripción genera varios tipos de RNA, de los cuales los rRNA, tRNA y mRNA participan directamente en la síntesis de proteínas (Capítulo 19).

DNA
(+)
5′— TTTGGACAACGTCCAGCGATC —3′ Cadena no molde
3′— AAACCTGTTGCAGGTCGCTAG —5′ Cadena molde
(−)
RNA
5′—UUUGGACAACGUCCAGCGAUC —3′

FIGURA 18-18
Cadena de DNA codificadora.
Se transcribe una de las dos cadenas complementarias de DNA, que se denomina cadena molde (−). El RNA transcrito tiene una secuencia idéntica a la cadena no molde (+) o codificadora, excepto por la sustitución de U por T.

Transcripción en los procariotas

La RNA polimerasa de *E. coli* cataliza la síntesis de todas las clases de RNA. Con un peso molecular de alrededor de 450 kD, la RNA polimerasa es un complejo relativamente grande (Fig. 18-19). Está formada por cinco clases de polipéptidos: α, β, β', ω y σ (sigma). La enzima central (α_2, β, β' y ω) cataliza la síntesis de RNA. La unión transitoria del factor σ a la enzima central la permite unirse a la cadena molde correcta y en el lugar adecuado para iniciar la transcripción. Se han identificado varios factores σ. Por ejemplo, en *E. coli* σ^{70} participa en la transcripción de la mayoría de los genes, mientras que σ^{32} y σ^{28} promueven la transcripción de los genes de choque térmico y del gen de la flagelina, respectivamente. (Como sugiere su nombre, la flagelina es una proteína componente de los flagelos bacterianos.) El superíndice indica el peso molecular de la proteína en kilodaltons.

En la Figura 18-20 se resume la transcripción de un gen de *E. coli*. El proceso consta de tres fases: iniciación, elongación y terminación. A continuación se describen brevemente cada una de ellas.

La iniciación de la transcripción comienza con la unión de la RNA polimerasa a una secuencia específica de DNA que se llama **promotor**. Aunque los promotores procariotas tienen tamaños variados (de 20 a 200 pb), son notablemente semejantes entre las diversas especies bacterianas dos secuencias cortas en las posiciones situadas a unos 10 y 35 pb del lugar de iniciación de la transcripción. (En estas secuencias, que se denominan **secuencias consenso**, se encuentran en cada lugar nucleótidos específicos. Las secuencias que se presentan en la Figura 18-20 se denomina con relación al punto de comienzo de la transcripción, región −35 y región −10. La región −10 también se denomina *caja de Pribnow*, por su descubridor.) La RNA polimerasa se desliza a lo largo del DNA hasta que alcanza una secuencia promotora. Una vez que la enzima se ha unido a la región promotora, se desenrolla un segmento corto de DNA cerca de la caja de Pribnow. La transcripción comienza con la unión del primer nucleótido trifosfato (habitualmente el ATP o el GTP) al complejo RNA polimerasa. Un ataque nucleófilo del grupo 3′-OH del primer nucleótido trifosfato sobre el fosfato α de un segundo nucleótido trifosfato (colocado también por apareamiento de bases en un lugar adyacente) produce la formación del primer

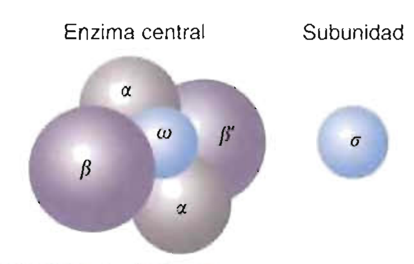


FIGURA 18-19

RNA polimerasa de *E. coli*.

La RNA polimerasa de *E. coli* está formada por dos subunidades α y una de cada una de las subunidades β, β' y ω. La unión transitoria de la subunidad σ permite la unión de la enzima central a las secuencias de DNA adecuadas.

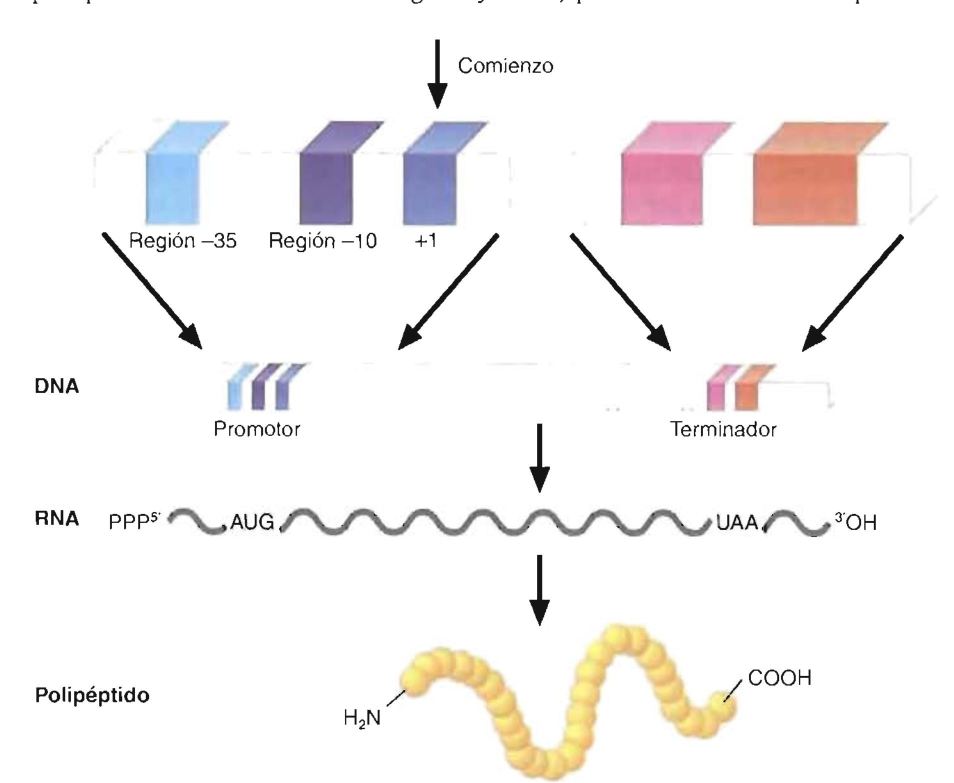


FIGURA 18-20

Una unidad de transcripción típica de *E. coli*.

Si la RNA polimerasa se puede unir al promotor, comienza la transcripción del DNA en +1 corriente abajo del promotor de la bacteria. La traducción del mRNA comienza tan pronto como se encuentra disponible el lugar de unión del ribosoma en el mRNA que se transcribe.

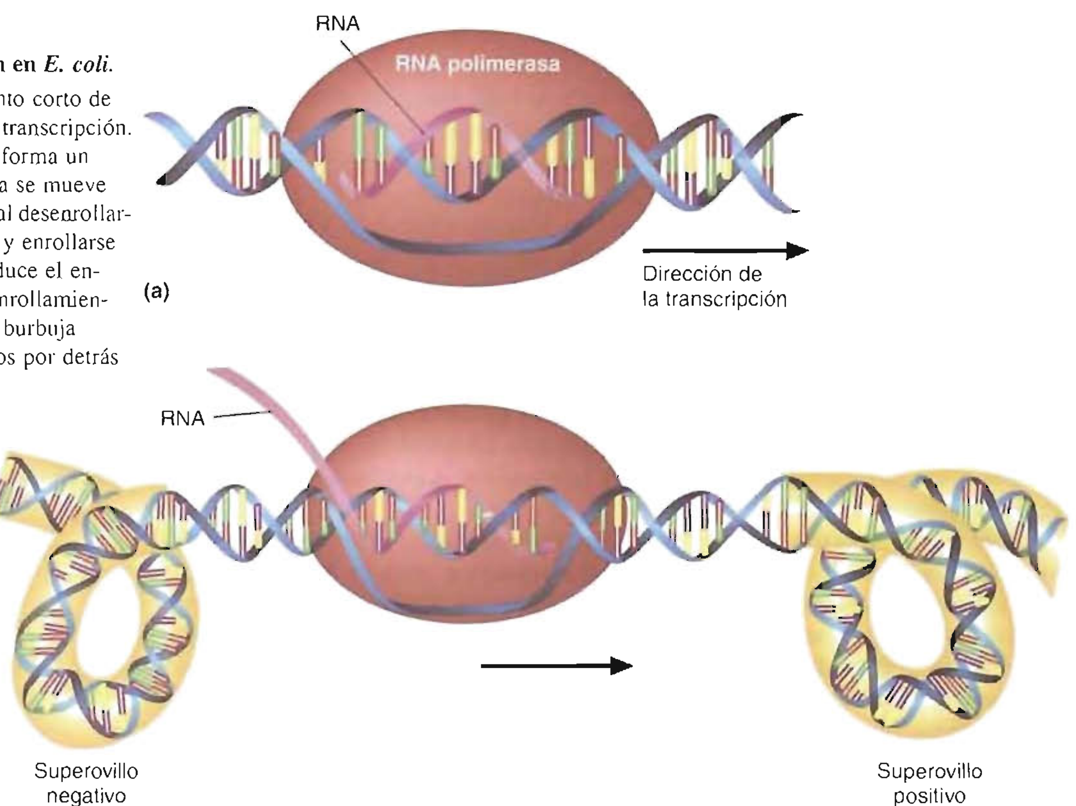


FIGURA 18-21

Iniciación de la transcripción en *E. coli*.

(a) Al desenrollarse un segmento corto de DNA se forma una burbuja de transcripción. Al avanzar la transcripción se forma un híbrido RNA-DNA. La burbuja se mueve para mantener la transcripción al desenrollarse el DNA por delante de ella y enrollarse detrás. (b) La transcripción induce el enrollamiento. Se forman superenrollamientos positivos por delante de la burbuja y superenrollamientos negativos por detrás de ella.

enlace fosfodiéster. (El extremo 5′ de los transcritos procariotas posee un grupo trifosfato debido a que los grupos fosfato de la primera molécula no participan en esta reacción.) Si la secuencia que se transcribe alcanza una longitud de alrededor de 10 nucleótidos, la conformación del complejo RNA polimerasa cambia; por ejemplo, se libera el factor α y finaliza la fase de iniciación. Tan pronto como la RNA polimerasa ha iniciado la transcripción y se ha desplazado más allá del lugar promotor, puede colocarse otra RNA polimerasa, unirse al lugar y comenzar otra tanda de síntesis de RNA.

Una vez que el factor α se desprende y desciende la afinidad del complejo RNA polimerasa por el lugar promotor, comienza la fase de elongación. La RNA polimerasa central se convierte en un complejo de transcripción activo al unir varias proteínas accesorias. Al producirse la síntesis de RNA en la dirección 5′ → 3′ (Fig. 18-21), el DNA se desenrolla por delante de la *burbuja de transcripción* (el segmento de DNA desenrollado transitoriamente en el que se ha formado un híbrido RNA-DNA). La acción de desenrollar de la RNA polimerasa crea enrollamientos positivos por delante de la burbuja de transcripción y enrollamientos negativos por detrás de la burbuja, que disipan las topoisomerasas. (Al moverse la burbuja por el gen, se dice que se mueve «corriente abajo». Cualquier estructura o actividad en la otra dirección se dice que está «corriente arriba».) La incorporación de los ribonucleótidos continúa hasta que se alcanza una señal de terminación.

Las secuencias de terminación contienen palíndromos. El transcrito del palíndromo de DNA forma una vuelta de horquilla estable. Aparentemente, esta estructura hace que la RNA polimerasa vaya más lenta o que se pare y rompa parcialmente la estructura híbrida RNA-DNA. En algunas secuencias de terminación, que se denominan lugares de terminación independientes de ρ (ro), tras la estructura de horquilla se forman varios residuos de uridina (alrededor de seis). La secuencia corta U-A promueve la disociación del RNA recién sintetizado de la cadena de DNA debido a que las interacciones de apareamiento de bases U-A son débiles. En la terminación dependiente del factor ρ, éste (una enzima que cataliza el desenrollamiento de las hélices RNA-DNA que requiere ATP) impulsa la disociación del complejo RNA polimerasa del híbrido RNA-DNA. ρ se une al RNA y no a la RNA polimerasa.

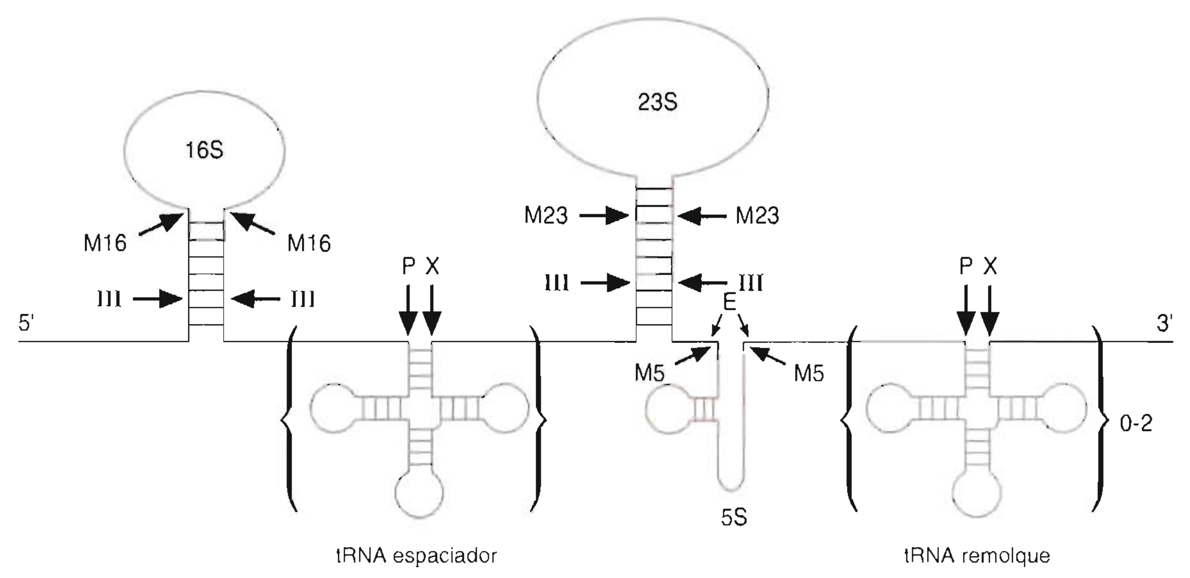


FIGURA 18-22

Procesamiento del RNA ribosómico de *E. coli*.

Cada operón de rRNA codifica un transcrito primario que contiene una copia de cada uno de los rRNA 16S, 23S y 5S. Cada transcrito codifica también uno o dos tRNA espaciadores y hasta dos tRNA remolque. El procesamiento posterior a la transcripción implica numerosas reacciones de rotura catalizadas por varias RNasas y reacciones de corte y empalme. (Las RNasas individuales se identifican por letras y/o números, p. ej., M5, X y III). La RNasa es una ribozima.

En los procariotas, el mRNA se utiliza inmediatamente en la síntesis de proteínas. En realidad, la síntesis de proteínas comienza mientras se está produciendo la transcripción. Sin embargo, las moléculas maduras de rRNA y tRNA se producen a partir de transcritos más grandes mediante un procesamiento posterior a la transcripción. En la Figura 18-22 se presentan las reacciones del procesamiento de los rRNA de *E. coli*. El genoma de *E. coli* contiene varios conjuntos de los genes de rRNA 16S, 23S y 5S. (Cada conjunto de genes se denomina un **operón**.) En el paso de procesamiento principal, el transcrito 30S policistrónico se metila y posteriormente se fracciona por varias RNasas en varios segmentos más cortos. Un mayor fraccionamiento da lugar a los rRNA maduros. También se producen unos pocos tRNA. Los otros tRNA se producen a partir de transcritos primarios en un conjunto de reacciones de procesamiento en las que se recortan por varias RNasas. En el último paso del procesamiento del tRNA, un gran número de bases se alteran mediante varias reacciones de modificación (p. ej., desaminación, metilación y reducción).

CONCEPTOS CLAVE 18.4

Durante la transcripción, una molécula de RNA se sintetiza a partir de un DNA molde. En los procariotas este proceso implica una única actividad RNA polimerasa. La transcripción se inicia cuando el complejo RNA polimerasa se une a una secuencia promotora.

Transcripción los en eucariotas

Aunque la transcripción en los procariotas y los eucariotas es semejante, entre ellas existen diferencias significativas, aparentemente debidas a la mayor complejidad estructural de los eucariotas. Por ejemplo, la mayoría de la cromatina de las células eucariotas se encuentra al menos parcialmente condensada en cualquier momento. Sin embargo, para que el DNA pueda transcribirse debe estar suficientemente expuesto y ser accesible a la actividad RNA polimerasa. De forma semejante, la función adecuada de la célula depende del transporte oportuno de una gran variedad de productos de transcripción a través de la membrana nuclear dentro del citoplasma. Los eucariotas parecen haber resuelto éste y otros problemas complejos con soluciones igualmente complejas. Por ejemplo, la transcripción eucariota está regulada por un elevado número de factores de transcripción que deben ensamblarse de forma precisa antes de que pueda empezar la transcripción. Algunos de estos factores influyen sobre la transcripción cuando se unen a secuencias de DNA que están lejos de la región promotora sobre la que influyen. Los problemas de transporte parecen haberse resuelto en parte mediante determinadas reacciones de procesamiento que permi-

ten a cada producto de transcripción exportarse a través de un poro nuclear. (Los poros nucleares son estructuras complejas con varias subunidades. Se cree que el transporte a través del complejo poro nuclear tiene lugar cuando las moléculas de RNA y proteínas se unen a receptores específicos. Los núcleos con una transcripción activa pueden poseer un número mayor de poros nucleares.)

La transcripción del DNA eucariota no se conoce tan bien como el proceso procariota, principalmente debido a la complejidad de los genomas eucariotas. Sin embargo, el proceso eucariota posee las características singulares siguientes:

1. **Actividad RNA polimerasa.** Los eucariotas poseen tres RNA polimerasas nucleares, cada una de las cuales se diferencia en la clase de RNA que sintetiza, la estructura de subunidades y las cantidades relativas. La RNA polimerasa I, que se encuentra dentro del nucléolo, transcribe los rRNA grandes. Los precursores de los mRNA y de la mayoría de los snRNA se transcriben por la RNA polimerasa II, y la RNA polimerasa III es responsable de la transcripción de los precursores de los tRNA y del rRNA 55S. Cada polimerasa posee dos subunidades grandes y varias (seis a diez) subunidades más pequeñas. Por ejemplo, las dos subunidades grandes de la RNA polimerasa II, la enzima que transcribe la mayoría de los genes eucariotas, tienen pesos moleculares de 215 y 139 kD. El número de subunidades más pequeñas varía entre las especies; por ejemplo, las plantas poseen ocho, mientras que los vertebrados tienen seis. Algunas de las subunidades más pequeñas también están presentes en las otras dos RNA polimerasas. Las enzimas eucariotas no pueden iniciar por sí mismas la transcripción de forma diferente a la RNA polimerasa procariota. Antes de que pueda empezar la transcripción, deben unirse al promotor varios factores de transcripción.

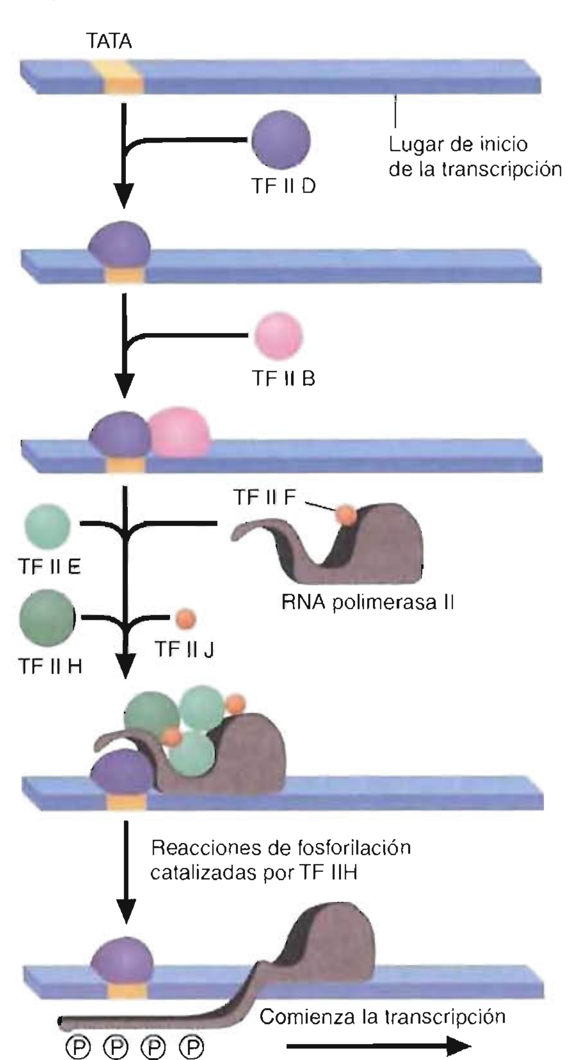


FIGURA 18-23

Inicio de la transcripción en los eucariotas.

Antes de que la RNA polimerasa pueda comenzar a transcribir un gen, los factores de transcripción deben ensamblarse en un complejo. El proceso comienza cuando el TFIID se une a la secuencia TATA. El TFIID, que consta de *TBP* (una proteína de unión a TATA) y varias proteínas asociadas, se une al DNA dúplex en la secuencia TATA y lo desenrolla. A continuación se une el TFIIB y, posteriormente, el TFIIE, el TFIIH y el TFIIJ. El TFIIF se une directamente a la RNA polimerasa II. Debido a las reacciones de fosforilación que cataliza el TFIIH, la RNA polimerasa II se activa y comienza la transcripción.

2. Promotores. Las secuencias promotoras del DNA eucariota son más grandes, más complicadas y más variables que las de los procariotas. Muchos promotores de la RNA polimerasa II contienen secuencias de consenso, que se denominan caja TATA, que se encuentran unos 25-30 pb corriente arriba del lugar de inicio de la transcripción. Como se ilustra en la Figura 18-23, la unión del factor de transcripción TFIID a la caja TATA es el primer paso del ensamblaje del complejo de transcripción de la RNA polimerasa II. La frecuencia de inicio de la transcripción suele afectarse por la unión de determinados factores de transcripción corriente arriba de elementos como la *caja CAAT* y la *caja GC*. La actividad de muchos promotores está afectada por *potenciadores*, secuencias reguladoras que pueden encontrarse miles de pares de bases corriente arriba o corriente abajo del gen al que afecta. (En las levaduras estas secuencias se llaman secuencias activadoras corriente arriba o UAS.) Los efectos de los potenciadores pueden ser complejos. Por ejemplo, las actividades combinadas de varios potenciadores pueden controlar un único gen. Los elementos de respuesta a las hormonas (Sección 16.4) suelen actuar como potenciadores.

3. Procesamiento. El procesamiento posterior a la transcripción tiene lugar tanto en procariotas como en eucariotas. Las diferencias más notables entre los dos tipos de organismos descansan en el procesamiento de los mRNA. Al contrario que los mRNA procariotas, que normalmente requieren poco procesamiento o ninguno, los mRNA eucariotas son los productos de una edición extensa. Mediante el procesamiento, los transcritos pre-mRNA (hnRNA, véase la pág. 595) se asocian con alrededor de 20 clases diferentes de proteínas nucleares en partículas ribonucleoproteicas (hnRNP). Inmediatamente tras comenzar la transcripción de los transcritos primarios, se produce una modificación del extremo 5′ que se denomina *formación de la caperuza*. La estructura de la caperuza (Fig. 18-24), que consta de 7-metilguanosina ligada al mRNA mediante un enlace trifosfato, protege al extremo 5′ de las

FIGURA 18-24

Caperuza metilada del mRNA eucariota.

La estructura de la caperuza consta de una 7-metilguanosina unida al extremo 5′ de una molécula de RNA a través de un enlace 5′ → 5′ único. El 2′-OH de los dos primeros nucleótidos del transcrito está metilado.

CONCEPTOS CLAVE 18.5

La transcripción en los eucariotas es significativamente más compleja que su correspondiente en los procariotas. Además de requerir tres RNA polimerasas, el proceso en los eucariotas requiere la unión combinada de numerosos factores de transcripción antes de que la RNA polimerasa pueda iniciar la transcripción.

exonucleasas e impulsa la traducción por los ribosomas. Por razones desconocidas, la RNA polimerasa II transcribe bastante más allá del pasado el extremo funcional del transcrito primario. Tras finalizar la transcripción, el transcrito se fracciona en un lugar específico cerca de la secuencia AAUAAA. Inmediatamente después, se añaden entre 100 y 250 residuos de adenilato por la poli(A)polimerasa al extremo 3′. Esta *cola de poli A* se cree que desempeña varias funciones, entre las que se encuentran el amortiguamiento de la pérdida de secuencias críticas del extremo 3′ del mRNA mediante la acción de 3′,5′-exonucleasas y promoviendo la exportación de los mRNA al citoplasma y su traducción por los ribosomas. (Algunos mRNA, como los mRNA de las histonas, no contienen colas de poli A.) Las reacciones de procesamiento más

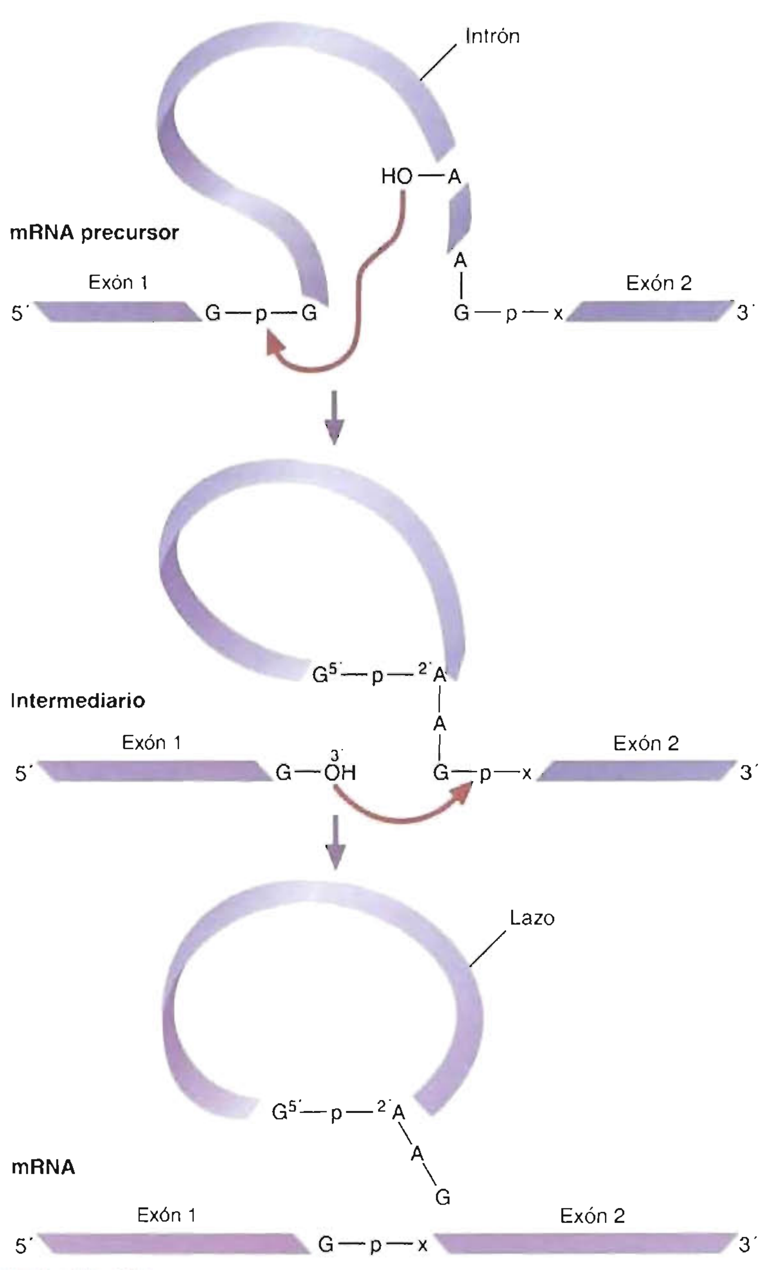


FIGURA 18-25

Corte y empalme del RNA.

El corte y empalme del RNA comienza con el ataque nucleófilo del 2′-OH de una adenosina específica sobre un fosfato en el lugar de corte y empalme 5′. Se forma un lazo por un enlace 2′,5′-fosfodiéster. En el paso siguiente, el 3′-OH del exón 1 (que actúa como nucleófilo) ataca un fosfato adyacente al lazo. Esta reacción libera el intrón y liga los dos exones.

drásticas y complejas son las que eliminan los intrones. Durante este proceso (que se presenta en la Figura 18-25), denominado **corte y empalme**, cada intrón se corta en una configuración poco habitual que se llama *lazo*. El corte y empalme tiene lugar en el **espliceosoma**, una estructura con varios componentes (40-60 S) que contiene varios snRNA, así como varias proteínas. Un ejemplo imprevisto de corte y empalme, descubierto en 1982 por Thomas Cech, es el auto-corte y empalme de las moléculas de pre-rRNA del protozoo *Tetrahymena*. Estas moléculas catalíticas de mRNA, que actualmente se denominan **ribozimas**, se han encontrado también en otros organismos.

PREGUNTA 18.15

Defina los siguientes términos:
a. operón
b. promotor
c. espliceosoma
d. cadena codificadora
e. secuencias de consenso

PREGUNTA 18.16

¿Cuáles son las funciones de las RNA polimerasas I, II y III?

18.3. EXPRESIÓN DE LOS GENES

En última instancia, el orden interno más esencial de los seres vivos requiere la regulación precisa y oportuna de la expresión de los genes. Es, después de todo, la capacidad de activar y desactivar los genes la que permite a las células responder eficazmente a los entornos cambiantes. En los organismos multicelulares, los patrones complejos programados de la expresión de los genes son los responsables de la diferenciación celular y de la cooperación intercelular.

La regulación de los genes, medida por sus velocidades de transcripción, es el resultado de una jerarquía compleja de elementos de control que coordina las actividades metabólicas de las células. Algunos genes, que se denominan **genes constitutivos** o domésticos, se transcriben rutinariamente debido a que codifican productos génicos (p. ej., enzimas del metabolismo de la glucosa, proteínas ribosómicas, histonas) que se requieren para la función celular. Además, en las células diferenciadas de los organismos multicelulares, se producen determinadas proteínas especializadas que no pueden detectarse en otra parte (p. ej., hemoglobina en los eritrocitos). Los genes que sólo se expresan en determinadas circunstancias se denominan *inducibles*. Por ejemplo, las enzimas que se requieren para el metabolismo de la lactosa en *E. coli* sólo se sintetizan cuando se encuentra realmente presente la lactosa y está ausente la glucosa, la fuente de energía preferida de la bacteria.

La mayoría de los mecanismos que utilizan los seres vivos para regular la expresión de los genes requiere interacciones DNA-proteína. A primera vista, la estructura aparentemente repetitiva y regular del DNA B parece hacerle una pareja poco probable de la unión sofisticada con una miríada de proteínas diferentes que debe producirse en la regulación de los genes. Sin embargo, como se señaló en el Capítulo 17, el DNA es algo deformable y determinadas secuencias pueden curvarse o doblarse. Además, se considera que los bordes de los pares de bases dentro del surco principal (y en menor medida del surco secundario) de la doble hélice pueden participar en la unión específica de secuencias de proteínas. Numerosos contactos (con frecuencia alrededor de 20 o más) con participación de interacciones hidrófobas, enlaces de hidrógeno y enlaces iónicos entre los aminoácidos y las bases de los nucleótidos dan lugar a una unión muy específica DNA-proteína. En la Figura 18-26 se dan varios ejemplos de interacciones aminoácido-base nucleotídica.

Las estructuras tridimensionales de la mayoría de las proteínas reguladoras del DNA que se han analizado tienen características sorprendentemente semejantes. Además de poseer normalmente un eje de simetría binario, muchas de estas moléculas pueden separarse en familias (Fig. 18-27) de acuerdo con las siguientes estructuras: (1) hélice-vuelta-hélice, (2) hélice-lazo-hélice, (3) cremallera de leucina y (4)

C G Ser 45

C G NH$_3^+$ Lys 4 Asn 55

FIGURA 18-26

Ejemplos de interacciones específicas aminoácido-base de nucleótido durante la unión proteína-DNA.

Estos ejemplos están tomados de los estudios estructurales de la unión de represores de λ al DNA.

dedo de cinc. Las proteínas de unión al DNA, muchas de las cuales son factores de transcripción, forman con frecuencia dímeros. Por ejemplo, diversos factores de transcripción con motivos de cremallera de leucina forman dímeros al interdigitarse sus hélices α que contienen leucina (Fig. 5.21c). Debido a que cada proteína posee su propia especificidad de unión y a que éstos y muchos otros factores de transcripción pueden combinarse para formar homodímeros (dos monómeros idénticos) y heterodímeros (dos monómeros diferentes), pueden formarse un gran número de agentes singulares reguladores de los genes.

Considerando la evidente complejidad de función que se observa en los seres vivos, no es sorprendente que la regulación de la expresión de los genes sea notablemente compleja y difícil de investigar. Por muchas de las razones señaladas, el conocimiento sobre la expresión de los genes procariotas está significativamente más avanzado que el de los eucariotas. La expresión de los genes procariotas se investigó originalmente, en parte, como modelo para el estudio de la función mucho más complicada de los genes de los mamíferos. Aunque se acepta que los dos tipos de genomas son muy diferentes en muchos aspectos, el trabajo en los procariotas ha proporcionado muchos conocimientos valiosos sobre los mecanismos de la expresión de los genes. En general, la expresión de los genes procariotas utiliza la interacción de proteínas específicas (que a veces se denominan reguladoras) con el DNA en

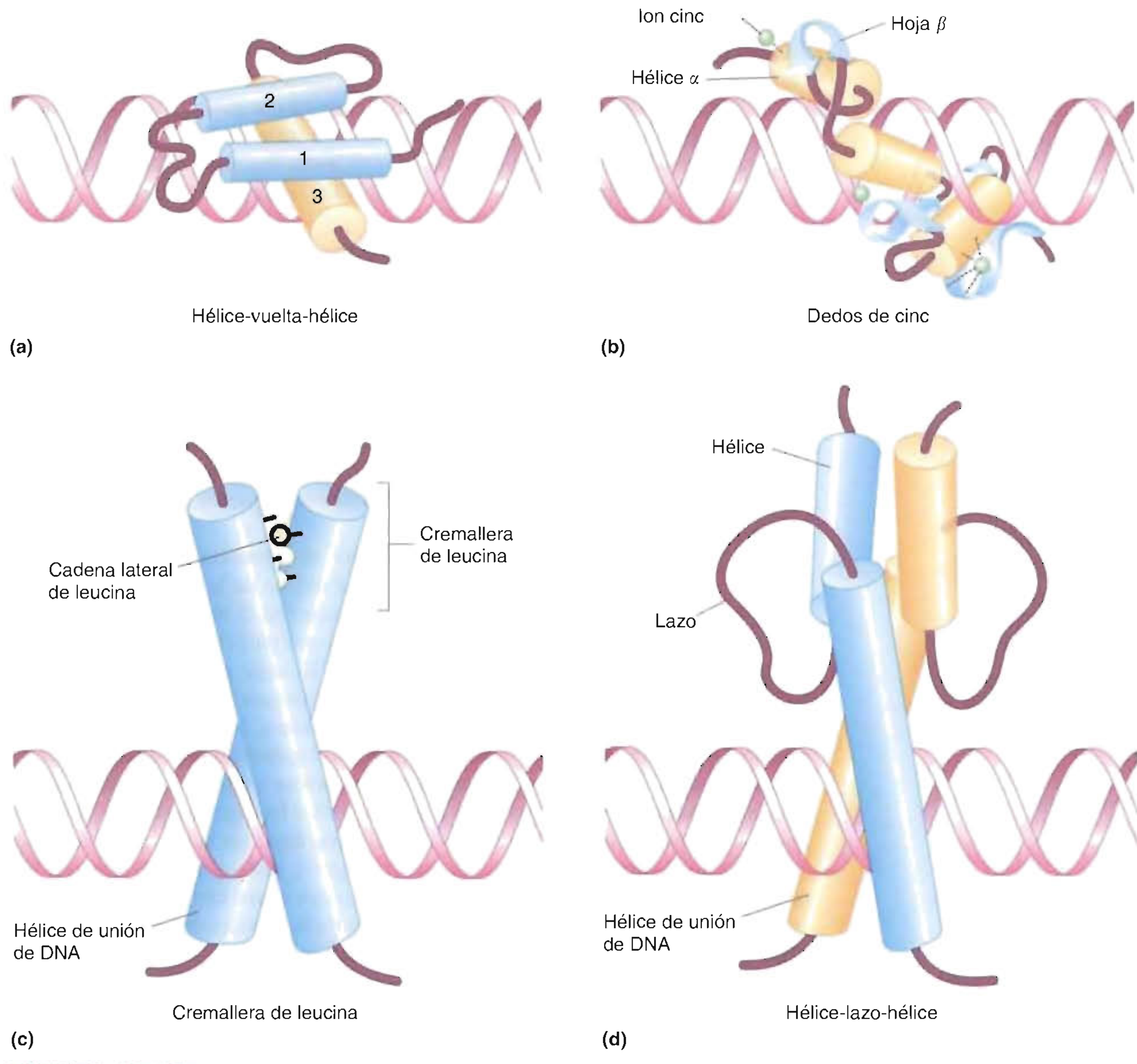


FIGURA 18-27
Interacciones DNA-proteína.
Las proteínas reguladoras de los genes contienen motivos estructurales específicos para interactuar con el DNA: (a) hélice-vuelta-hélice, (b) dedos de cinc, (c) cremallera de leucina, y (d) hélice-bucle-hélice.

la vecindad inmediata del lugar de comienzo de la transcripción. Estas interacciones pueden tener un efecto positivo (la transcripción se inicia o se aumenta) o un efecto negativo (la transcripción se bloquea). En una variación interesante, la inhibición de un regulador negativo (denominado *represor*) activa a los genes afectados. (La inhibición de un gen represor se denomina desrepresión.) La expresión de los genes eucariotas utiliza estos mecanismos y otros varios, entre ellos el reagrupamiento y la amplificación de los genes y diversos controles de la transcripción, del procesamiento del RNA y de la traducción. Además, la separación espacial de la transcripción y de la traducción, inherente en las células eucariotas, proporciona otra oportunidad para la regulación: el control del transporte del RNA. Finalmente, los eucariotas (y los procariotas) regulan también el funcionamiento celular mediante la modulación de proteínas por modificaciones covalentes.

En esta sección se describen varios ejemplos de control de la expresión de los genes. La consideración de la expresión de los genes procariotas se centra en el

operón lac. El *operón lac* de *E. coli* que estudiaron inicialmente Francois Jacob y Jacques Monod en los años 1950, permanece como uno de los modelos sobre la regulación de los genes que mejor se conocen. La expresión de los genes eucariotas no se conoce tan bien. Sin embargo, a pesar de nuestra ignorancia intimidadora, se ha descubierto un número significativo de las piezas de este maravilloso puzzle. La sección finaliza con una breve consideración sobre los recientes descubrimientos relacionados con la expresión de los genes que desencadenan los factores de crecimiento.

Expresión de los genes en los procariotas

Como se ha descrito antes, la gran regulación del metabolismo de los procariotas como *E. coli* permite a estos organismos responder rápidamente a un entorno cambiante para impulsar el crecimiento y la supervivencia. La síntesis oportuna de enzimas y otros productos génicos sólo cuando son necesarios evita el desperdicio de energía y de recursos nutritivos. A nivel genético, el control de los genes inducibles suele afectarse por grupos de genes estructurales y reguladores ligados que se denominan operones. Las investigaciones de los operones, especialmente del operón lac, han proporcionado un conocimiento sustancial de cómo pueden alterar la expresión de los genes las condiciones ambientales.

El operón lac (Fig. 18-28) está formado por un elemento de control y genes estructurales que codifican las enzimas del metabolismo de la lactosa. El elemento de control contiene el lugar promotor, que se solapa con el lugar operador. (En los procariotas, el *operador* es una secuencia de DNA que participa en la regulación de genes adyacentes que une una proteína represora.) El lugar promotor contiene también el lugar CAP (que se describe más adelante). Los genes estructurales Z, Y y A especifican la estructura primaria de la β-galactosidasa, la lactosa permeasa y la tiogalactósido transacetilasa, respectivamente. La β-galactosidasa cataliza la hidrólisis de la lactosa, que da los monosacáridos galactosa y glucosa, mientras que la lactosa permeasa estimula el transporte de la lactosa al interior de la célula. Debido a que el metabolismo de la lactosa normalmente tiene lugar sin la tiogalactosa transacetilasa, su función no está clara. Un gen represor i, justo al lado del operón lac, codifica la proteína represora de lac, un tetrámero que se une con afinidad elevada al lugar operador. (Existen alrededor de 10 copias de la proteína represora de lac por célula.) La unión del represor lac al operador impide la unión funcional de la RNA polimerasa al promotor (Fig. 18-29).

Sin su inductor (alolactosa, un isómero β-1,6 de la lactosa) el operón lac permanece reprimido debido a que el represor de lac está unido al operador. Cuando se dispone de lactosa, unas pocas moléculas se convierten en alolactosa por la β-galactosidasa. La alolactosa se une entonces al represor, cambiando su conformación y promoviendo la disociación del operador. Una vez que el represor inactivo se aleja del operador, comienza la transcripción de los genes estructurales. El operón lac permanece activo hasta que se consume el suministro de lactosa. Entonces el represor se invierte a su forma activa y vuelve a unirse al operador.

La glucosa es la fuente preferida de carbono y energía de *E. coli*. Si se dispone de glucosa y lactosa, se metaboliza primero la glucosa. La síntesis de las enzimas del operón sólo se induce después de haberse consumido la glucosa. (Esto tiene sentido

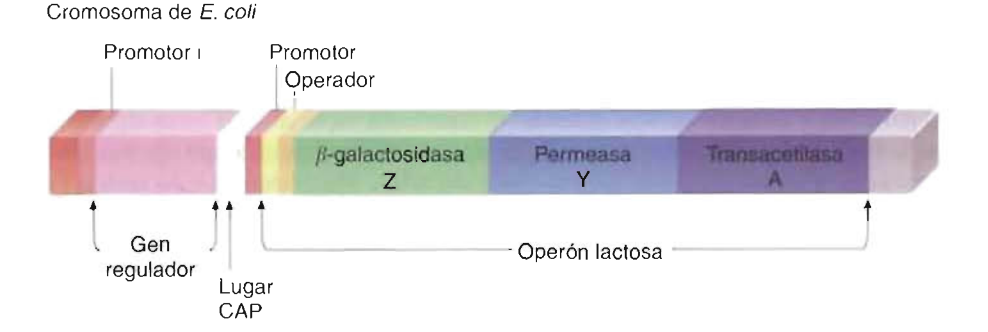


FIGURA 18-28
Operón lac de *E. coli*.

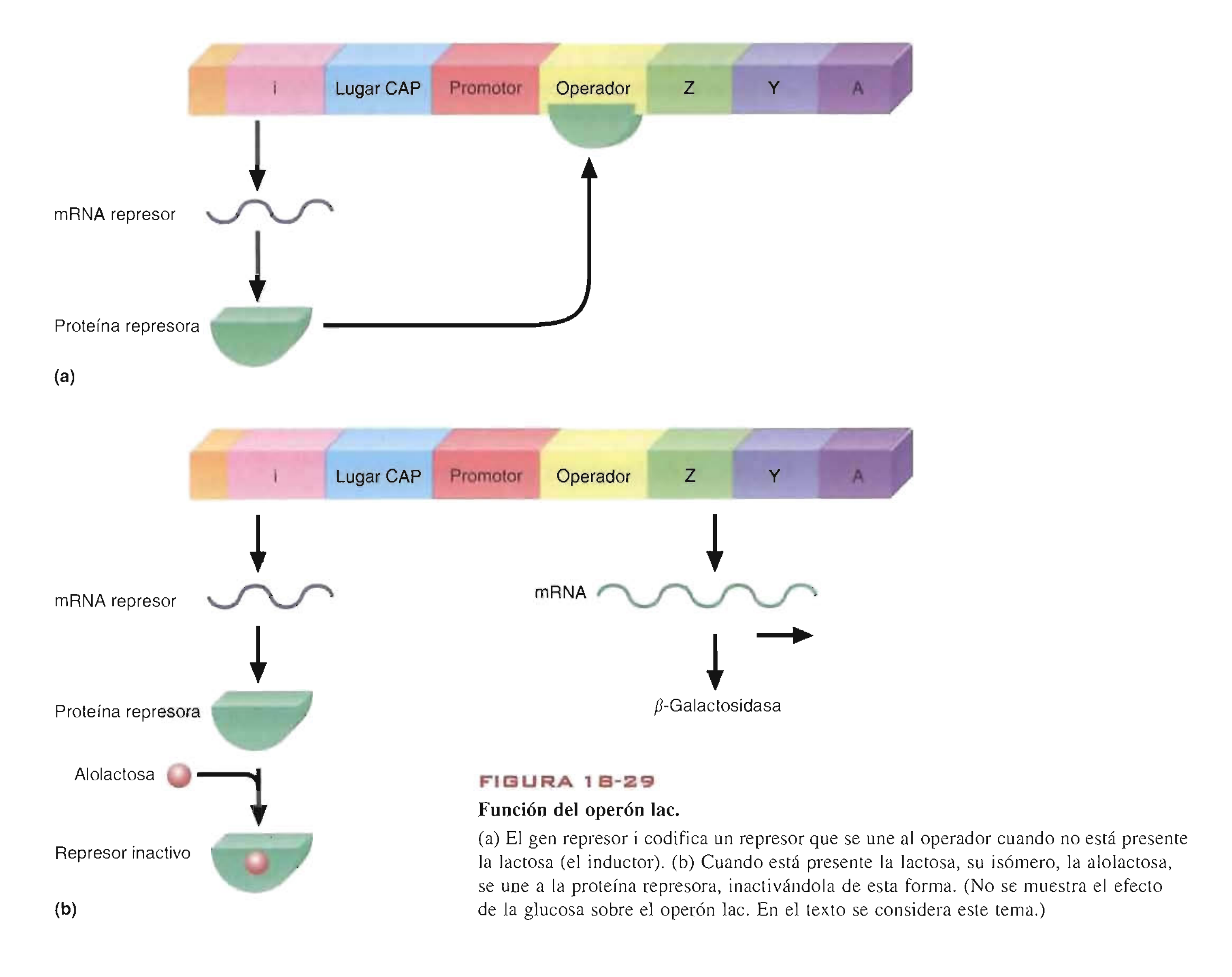


FIGURA 18-29

Función del operón lac.

(a) El gen represor i codifica un represor que se une al operador cuando no está presente la lactosa (el inductor). (b) Cuando está presente la lactosa, su isómero, la alolactosa, se une a la proteína represora, inactivándola de esta forma. (No se muestra el efecto de la glucosa sobre el operón lac. En el texto se considera este tema.)

debido a que la glucosa es de más fácil presencia y tiene un papel central en el metabolismo celular. ¿Por qué gastar energía para sintetizar las enzimas que se requieren para metabolizar otros azúcares si se dispone de glucosa? El retraso en la activación del operón lac está mediado por una proteína catabólica activadora del gen (CAP). CAP es un homodímero alostérico que se une al cromosoma cuando no hay glucosa en un lugar corriente arriba del promotor de lac. CAP es un indicador de la concentración de glucosa debido a que se une al cAMP. La concentración de cAMP de la célula aumenta cuando la célula tiene un déficit de energía, es decir, cuando no está presente la fuente primaria de carbono (glucosa). La unión del cAMP a la CAP, que sólo tiene lugar cuando no hay glucosa y las concentraciones de cAMP son elevadas, produce un cambio conformacional que permite a la proteína unirse al promotor lac. La unión de CAP impulsa la transcripción al aumentar la afinidad de la RNA polimerasa por el promotor lac. En otras palabras, CAP ejerce un control positivo o activador del metabolismo de la lactosa.

CONCEPTOS CLAVE 18.6

Los genes constitutivos se transcriben de forma rutinaria, mientras que los genes inducibles se transcriben en condiciones adecuadas. En los procariotas, los genes inducibles y sus secuencias reguladoras están agrupados en operones.

PREGUNTA 18.17

Recientemente se han comunicado varios casos de infección producidos por una cepa virulenta poco frecuente de estreptococos del grupo A. Aproximadamente en el 25-50 % de los casos (comunicados en Gran Bretaña y Estados Unidos), la infección dio lugar a una fascitis necrotizante, una destrucción de la carne que se extiende rápidamente, a menudo acompañada de hipotensión, insuficiencia orgánica y shock

tóxico. Si no se inicia un tratamiento con antibióticos a los tres días de la exposición a la bacteria, puede producirse gangrena y la muerte. En los años 1920 se comunicaron casos semejantes. Sin embargo, estos primeros casos tenían una tasa de mortalidad significativamente menor, aunque aún no se disponía de antibióticos. (Los médicos comunicaron el tratamiento de las áreas afectadas con lavados con soluciones ácidas.)

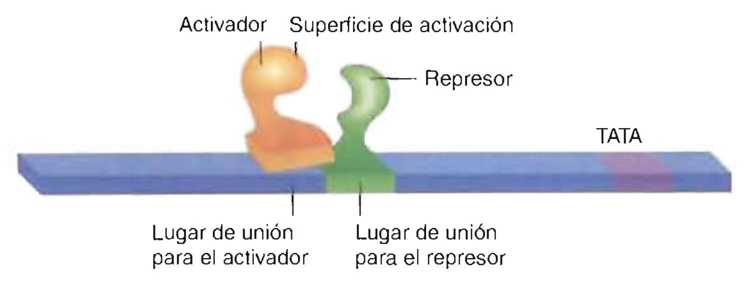
Los estreptococos del grupo A se convierten en la forma patógena infectándose ellos mismos con un determinado virus. El genoma de este virus contiene un gen que codifica una toxina que destruye los tejidos. ¿Puede describir, en términos generales, cómo una infección vírica puede causar un cambio permanente de la patogenicidad de una bacteria de un estreptococo del grupo A? Considerando la diferencia aparente de virulencia entre la bacteria de los años 1920 y la actual, ¿existe algún método para determinar si la misma cepa de estreptococos del grupo A es responsable de ambos grupos de casos? Se dispone de especímenes conservados de tejido infectado de los primeros casos. (*Pista*: Véase Métodos Bioquímicos 18.1.)

Expresión de los genes en los eucariotas

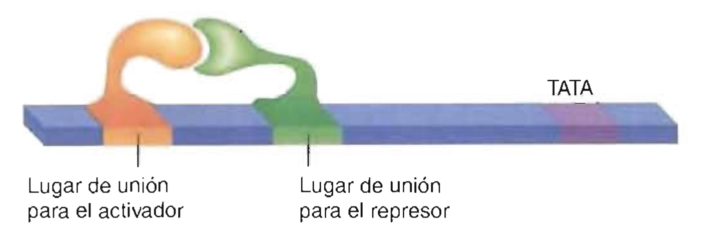
Como ya se ha señalado, los genomas de los eucariotas son muchísimo más grandes y más complejos que los de los procariotas. Presumiblemente, estas diferencias pueden explicarse, al menos en parte, por los obstáculos con los que se enfrenta cada clase de organismo. Los eucariotas generalmente tienen unas vidas más complicadas que las de los procariotas. Esto es especialmente cierto en los eucariotas multicelulares. Por ejemplo, entre los animales superiores y las plantas, numerosas células diferenciadas de cada organismo individual proceden del genoma de un huevo fertilizado. Por su propia naturaleza, el desarrollo requiere una expresión ordenada y secuencial de un vasto número de genes. Además, como se ha descrito, la vida de los organismos multicelulares requiere una coordinación intercelular que comporta variaciones de la expresión de los genes. En los últimos años se ha avanzado mucho en la investigación de la expresión de los genes eucariotas, en gran parte debido a la clonación molecular y otras técnicas de DNA recombinante (que se describen en Métodos Bioquímicos 18.1). Las pruebas actuales indican que la expresión de los genes eucariotas, que se mide por las variaciones de las cantidades y actividades de los productos de los genes producidos, se regula a los siguientes niveles: control genómico, control de la transcripción (véanse las págs. 638-643), procesamiento del RNA, transporte del RNA y control de la traducción. A continuación se consideran brevemente cada uno de ellos.

CONTROL GENÓMICO Aunque la mayoría de las células de los organismos multicelulares posee el mismo conjunto de genes, sólo una fracción se llega a expresar en cada una de las diversas clases de células. La expresión está afectada por varios tipos de cambios de la organización estructural del genoma. Entre los cambios que se observan con mayor frecuencia se encuentran la metilación del DNA y la acetilación de las histonas. La metilación de las citosinas de determinadas secuencias 5′-CG-3′ silencia la expresión. Por ejemplo, las secuencias de los genes de las transposasas y las secuencias semejantes que experimentan recombinación normalmente se encuentran metiladas. La adición de grupos acetilo a los residuos de lisina de las cadenas laterales de las histonas H3 y H4 reduce su afinidad por el DNA. En general, la acetilación de las histonas impulsa la expresión de los genes. Un gran número de proteínas que afectan la expresión de los genes tiene actividad acetilasa o desacetilasa.

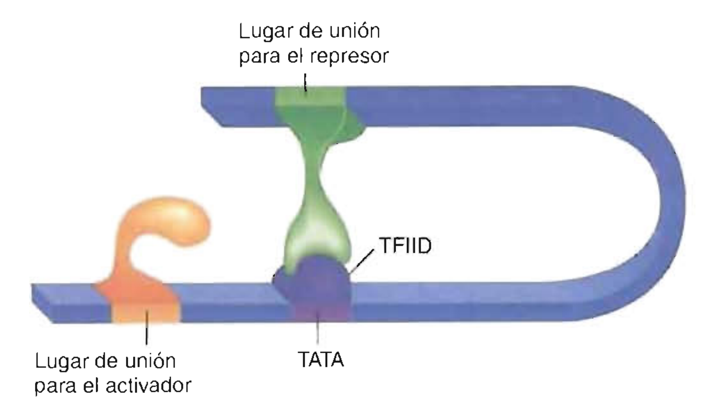
Una cantidad significativa de la regulación de los genes tiene lugar a través de una transcripción selectiva. En la iniciación de la transcripción en los eucariotas parecen existir dos influencias principales: la estructura de la cromatina y las proteínas reguladoras de los genes. Durante la interfase del ciclo celular, la cromatina se observa de dos formas. La **heterocromatina** está tan densamente condensada que es transcripcionalmente inactiva. Una pequeña porción de la heterocromatina de cada célula se encuentra en todas las células individuales de un organismo. Otras porciones de heterocromatina se diferencian con un patrón específico en cada tejido. La **eucromatina**, una forma menos condensada de la cromatina, posee niveles variables de



(a) Unión competitiva del DNA



(b) Enmascaramiento de la superficie de activación



(c) Interacción directa con los factores de transcripción generales

FIGURA 18-30

Mecanismo propuesto para la represión de los genes en los eucariotas.

(a) Las proteínas factores de transcripción compiten por la unión a la misma secuencia reguladora. (b) Las proteínas activadoras y represoras se unen al DNA, aunque en lugares diferentes. El represor bloquea la transcripción uniéndose y enmascarando los lugares de activación sobre el activador. (c) El factor represor se une a un factor de transcripción unido al DNA, evitando así el ensamblaje de un complejo de transcripción.

actividad transcripcional. La eucromatina transcripcionalmente activa es la menos condensada. La eucromatina inactiva está algo más condensada (pero menos que lo que se observa en la heterocromatina). Se desconoce el mecanismo por el que la cromatina se condensa reversiblemente. Sin embargo, parecen intervenir las modificaciones covalentes de las histonas (p. ej., acetilación como se ha explicado, fosforilación y, en menor grado, metilación). Como se ha descrito, una gran variedad de proteínas reguladoras de los genes afectan a la transcripción bien activando o bien reprimiendo genes. En la Figura 18-30 se presentan varios mecanismos que se han propuesto para explicar la represión de los genes que se produce a través de las proteínas.

Entre los ejemplos menos frecuentes de control genómico están los reordenamientos de los genes y la amplificación de los genes. La diferenciación de determinadas células implica reordenamientos de los genes, por ejemplo, los reordenamientos de los genes de los anticuerpos en los linfocitos B (Fig. 18-31). La transposición (véanse las págs. 626-629) se cree que afecta a la regulación de los genes. Durante

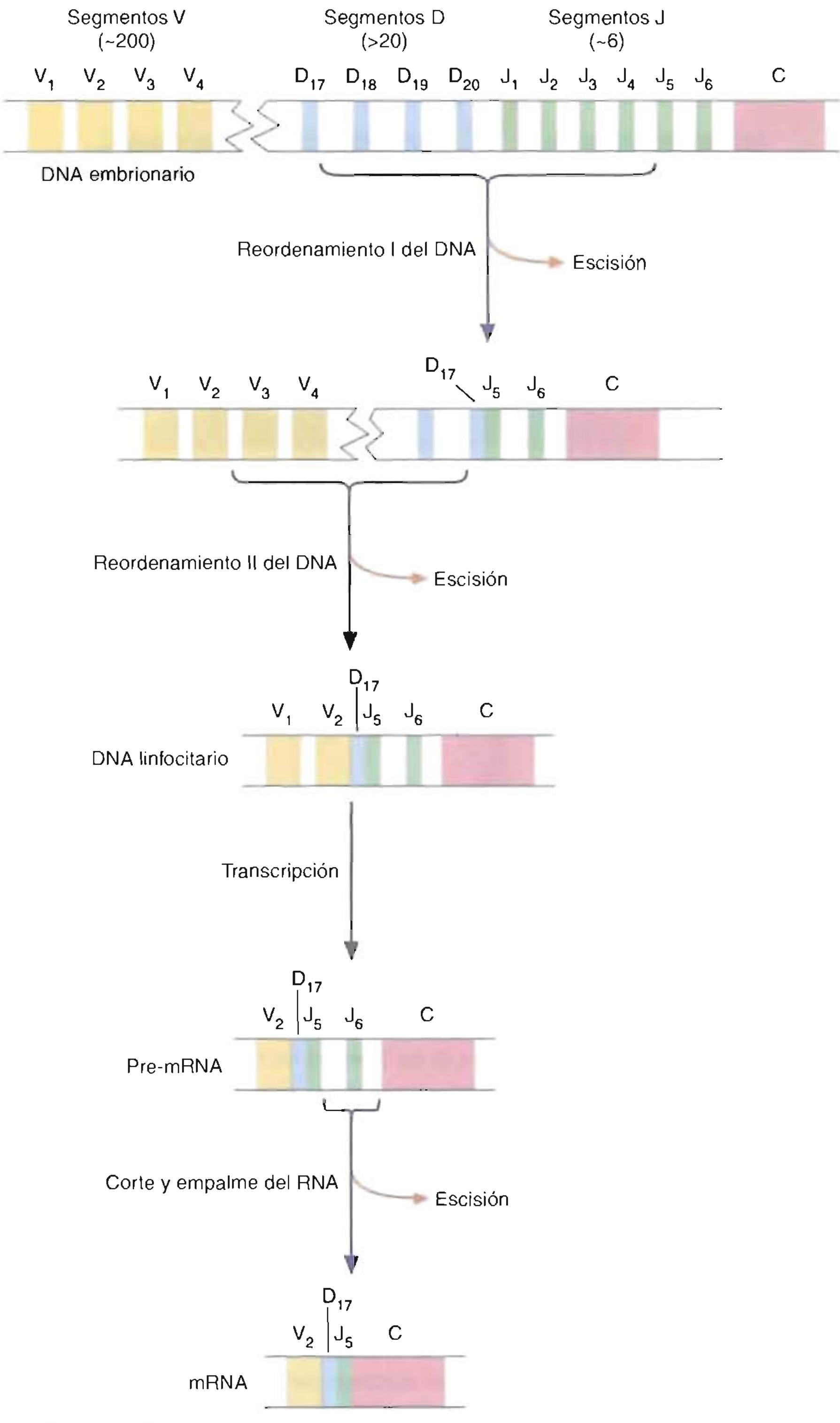


FIGURA 18-31

Reordenamientos del DNA.

Cada una de las cadenas pesadas de los anticuerpos contiene secuencias proteicas que proceden de una variante de cada uno de los segmentos de gen V (variable), D (diversidad) y J (unión). El DNA que codifica cada clase de cadena pesada (H) dentro de los linfocitos se genera por el reordenamiento de varias clases de segmentos de gen. Tras varios reordenamientos y escisiones se encuentra un segmento D específico junto a segmentos específicos V y J. Tras transcribirse el gen que se ha creado, se eliminan varias secuencias que separan el segmento VDJ del segmento C (constante).

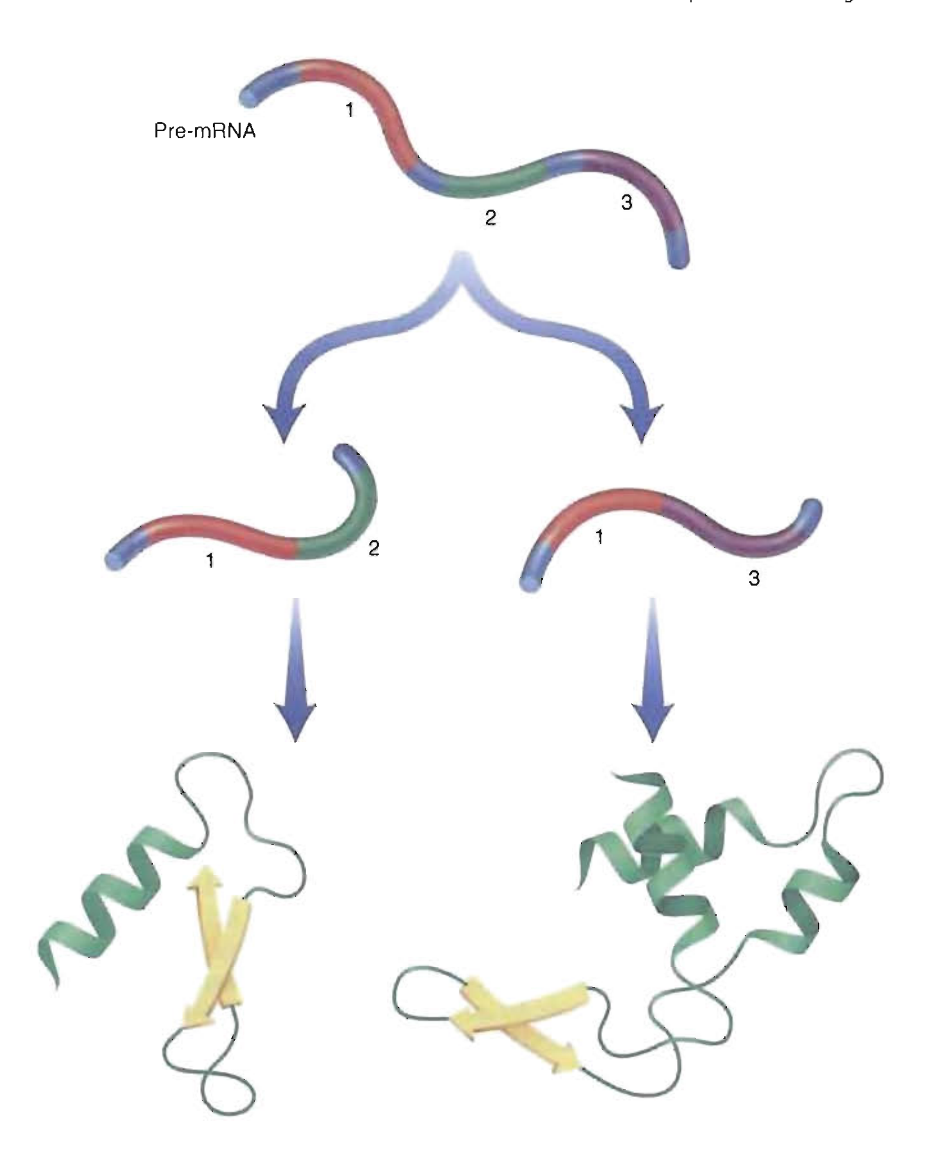


FIGURA 18-32

Procesamiento del RNA.

Las propiedades codificadoras de un mRNA dependen de los tipos de acontecimientos de procesamiento que experimente su precursor. A partir del corte y empalme de diferentes combinaciones de exones del mismo transcrito pre-mRNA pueden sintetizarse diferentes polipéptidos.

determinadas fases del desarrollo, el requerimiento de productos específicos de los genes puede ser tan grande que se amplifican selectivamente los genes que codifican su síntesis. La amplificación se produce a través de tandas de replicación dentro de la región amplificada. Por ejemplo, los genes de rRNA en varios animales (principalmente los anfibios, los insectos y los peces) se amplifican dentro de las células inmaduras de los huevos (que se denominan ovocitos). La amplificación del rRNA aparentemente es necesaria debido al requerimiento enorme de síntesis de proteínas durante las primeras fases del desarrollo de los huevos fertilizados.

PROCESAMIENTO DEL RNA Las células con frecuencia utilizan un procesamiento alternativo del RNA para controlar la expresión de los genes. Por ejemplo, el corte y empalme alternativo —la unión de diferentes combinaciones de exones— da lugar a la formación de mRNA diferentes y, por lo tanto, proteínas diferentes (Fig. 18-32). Por ejemplo, en una extensa variedad de células (p. ej., músculos esquelético, liso y cardíaco, fibroblastos y cerebro) se encuentran formas tisulares específicas de la α-tropomiosina. La selección de lugares alternativos para la poliadenilación afecta también la función del mRNA. Por ejemplo, una alteración de este tipo participa en el cambio, durante la fase temprana de la diferenciación de los linfocitos B, de la producción de un anticuerpo unido a la membrana a un anticuerpo que se segrega. Como se ha señalado, las colas de poli A tienen varios papeles en la función de los mRNA (pág. 641). En general, los mRNA con las colas de poli A más

largas son más estables, aumentando de esta manera sus oportunidades de traducción.

Se ha observado que algunas células cambian las propiedades codificantes de las moléculas de mRNA recién sintetizadas. En este proceso, que se denomina **edición del RNA**, se modifican químicamente, se pierden o se añaden determinadas bases. Por ejemplo, el mRNA de la apolipoproteína B-100 de las células hepáticas codifica un polipéptido de 4563 aminoácidos que es un componente de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Las células intestinales producen una versión más corta de la molécula que se denomina apolipoproteína B-48 (2153 residuos de aminoácidos) que se incorpora a las partículas de quilomicrones que producen estas células. La citosina del codón CAA, que especifica glutamina, se convierte por una reacción de desaminación en uracilo. El codón nuevo, UAA, es una señal de parada de la traducción; de aquí que durante la traducción del mRNA editado se produzca un polipéptido truncado.

PREGUNTA 18.18

Explique los siguientes términos:
a. eucromatina
b. heterocromatina
c. amplificación génica
d. operador
e. represor

TRANSPORTE DE RNA Como se ha mencionado, los eucariotas regulan el tráfico molecular dentro y fuera del núcleo. Por ejemplo, las señales nucleares para la exportación, la formación de la caperuza (véanse las págs. 641-642) y la asociación con proteínas específicas, se piensa controlan el transporte de las moléculas procesadas de RNA a través de los complejos poros nucleares (Fig. 2.16). Las pruebas recientes indican que la exportación requiere la unión del extremo 5′ del mRNA dentro del hnRNP a la proteína de unión a la caperuza (CBP), y la presencia de determinadas proteínas que componen una señal nuclear de exportación. Al transportarse el dominio del hnRNP unido a la CBP a través del complejo poro nuclear, determinadas proteínas hnRNP se eliminan y quedan retenidas dentro del núcleo. Una vez las hnRNP en el citoplasma, las proteínas nucleares restantes se eliminan y se intercambian por proteínas RNP citoplásmicas. Este último proceso se completa por la hidrólisis del GTP.

CONTROL DE LA TRADUCCIÓN Las células eucariotas pueden responder a diversos estímulos (p. ej., golpes de calor, infecciones víricas y cambios de fase del ciclo celular) alterando de forma selectiva la síntesis de proteínas. La modificación covalente de diversos factores de traducción (proteínas no ribosómicas que ayudan en el proceso de traducción) se ha observado que altera la tasa global de síntesis de proteínas y/o potencian la traducción de mRNA específicos. Por ejemplo, la fosforilación de la proteína eIF-2 afecta a la tasa de síntesis de hemoglobina en los reticulocitos (células rojas sanguíneas inmaduras) de conejo.

TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL Y EXPRESIÓN DE LOS GENES Todas las células responden a las señales de su entorno alterando la expresión de los genes. En comparación con los procariotas y también con los eucariotas unicelulares, la capacidad de procesamiento de la información de los eucariotas multicelulares es extraordinariamente sofisticada. La regulación de la expresión de los genes dentro de cada uno de los millones o billones de células individuales de un organismo multicelular requiere un extenso conjunto de moléculas señalizadoras. En la mayoría de los casos los cambios de la expresión de los genes se inician por la unión de un ligando a un receptor de la superficie celular o a un receptor intracelular. Los mecanismos por medio de los cuales las moléculas señalizadoras activan o desactivan determinados genes consisten en series intrincadas de reacciones que transmiten la información desde el entorno de la célula a secuencias específicas del DNA dentro del núcleo. Considerando los enormes esfuerzos investigadores dedicados a la investigación del cáncer (Recuadro de Interés Especial 18.1), los ejemplos mejor conoci-

dos de estas rutas de transducción de señales son aquellos que afectan a la división celular.

En contraste con los organismos unicelulares en los que el crecimiento celular y la división celular están gobernados en gran medida por la disponibilidad de los nutrientes, la proliferación de las células en los organismos multicelulares está regulada por una elaborada red intercelular de moléculas señalizadoras. Entre las características que complican los mecanismos de transducción intracelular de señales que han descubierto los esfuerzos investigadores de la proliferación celular se encuentran los siguientes:

1. **Cada tipo de señal puede activar una o varias rutas**. Los mecanismos por medio de las cuales las moléculas señalizadoras alteran la expresión de los genes suelen activar simultáneamente varias rutas diferentes. Esto explica las variaciones del metabolismo celular y de la apariencia que acompañan a las alteraciones de la expresión de los genes durante el desarrollo.
2. **Las rutas de transducción de señal pueden ser convergentes o divergentes**. Dependiendo de las circunstancias, la activación de varias clases de receptores puede dar lugar a las mismas respuestas solapantes. Como se ha expuesto anteriormente, las moléculas señalizadoras pueden también desencadenar varias rutas diferentes, cualquiera de las cuales puede ser también divergente.

En el ciclo celular de las células eucariotas, las células avanzan repetidamente a través de cada una de las cuatro fases (M, G_1, S y G_2, véase la Figura 18-9). Las investigaciones de diversas clases de células mutantes han descubierto que los puntos de control se producen dentro de las fases G_1 (en las levaduras se denomina START), G_2 y M. Se impide que la célula entre en la fase siguiente hasta que las condiciones sean óptimas (p. ej., crecimiento celular suficiente en G_2 o alineamiento de los cromosomas en M) y se reciben señales específicas. Las actividades fijas y rítmicas que se observan en la división celular están reguladas de forma que cada fase se complete antes de comenzar la siguiente. La progresión se realiza por una máquina molecular compleja, cuyo principal mecanismo es la síntesis y degradación alternante de un grupo de proteínas que se denominan ciclinas. Éstas, un grupo de proteínas reguladoras, se unen a las proteína quinasas dependientes de las ciclinas (Cdks) y las activan. Las Cdks son una clase de proteína quinasas que fosforilan diversas proteínas, desencadenando así el paso de la célula a través del punto de control a la fase siguiente del ciclo celular. La regulación de la división celular utiliza controles positivos y negativos. El control positivo se ejerce en gran medida mediante la unión de factores de crecimiento a receptores celulares especializados. La iniciación de la división celular requiere la unión de diversos factores de este tipo. La proliferación celular se inhibe por *genes supresores de tumores*. Entre los ejemplos mejor conocidos de estos genes se encuentran el gen Rb (que se llama así por el papel que desempeña la pérdida de la función del gen Rb en el retinoblastoma, un cáncer ocular de la infancia) y el p53 (una ciclina chaperona que detiene la progresión del ciclo celular). La detención del ciclo celular se prolonga cuando se ha producido una determinada cantidad de daño del DNA, como en la sobreexposición a la radiación. Si los mecanismos de reparación del DNA son incompletos, un mecanismo complejo que implica al p53 conduce a la muerte celular programada o **apoptosis**.

Los efectos positivos que ejercen los factores de crecimiento se cree que incluyen la expresión de los genes que específicamente superan la inhibición en los puntos de control del ciclo celular, especialmente el punto de control G_1. La unión de los factores de crecimiento a sus receptores de superficie celular inicia una cascada de reacciones que induce dos clases de genes.

1. **Genes de respuesta temprana**. Estos genes se activan rápidamente, normalmente en 15 minutos. Entre los genes de respuesta temprana mejor caracterizados están los protooncogenes jun, fos y myc. Los **protooncogenes** son genes normales que, cuando están mutados, pueden promover la carcinogenia. (Véase el Recuadro de Interés Especial 18.1.) Cada una de las familias de protooncogenes jun y fos codifica un conjunto de factores de transcripción que contienen dominios cremallera de leuci-

na. Las proteínas jun y fos forman dímeros que pueden unirse al DNA. Entre los mejor caracterizados está el heterodímero jun-fos, que se denomina AP-1, el cual se forma a través de una interacción cremallera de leucina. Aunque se sabe que la expresión del gen myc es de importancia esencial para la función celular normal (la expresión inadecuada de myc se encuentra en varios tipos de cáncer), permanece sin resolver cuál es la función bioquímica de esta familia de genes. Sin embargo, los productos del gen myc probablemente actúan como factores de transcripción.

2. Genes de respuesta retardada. Estos genes se inducen por las actividades de los factores de transcripción y otras proteínas producidas o activadas durante la fase de respuesta temprana. Entre los productos de los genes de respuesta retardada están Cdks, ciclinas y otros componentes necesarios para la división celular.

Como se ha expuesto anteriormente (véase la pág. 555), muchos factores de crecimiento se unen a receptores tirosina quinasa y algunos de éstos están ligados a través de mecanismos semejantes a la proteína G a la generación de DAG (diacilglicerol) e IP_3 (inositol trisfosfato) (Fig. 16-12). El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es un ejemplo de factor de crecimiento de este tipo, y en la Figura 18-33 se presenta su papel en la activación del factor de transcripción AP-1. El oncogén ras, que se aisló inicialmente de sarcomas de rata, sirve en su forma de protooncogén como el componente proteína G de este sistema. El ras se activa cuando se une a SOS/GRB2, un complejo proteico que se ha unido al dominio tirosina quinasa del receptor de EGF. SOS es una clase de **proteína liberadora de nucleótido de guanina** (GNRP) que hace que ras se libere de GDP y una un GTP cuando éste, a su vez, se une a otra proteína llamada GRB2. El ras se inactiva cuando el GTP se hidroliza, una reacción catalizada por las **proteínas activadoras de GTPasa**, o GAPs.

La fosfolipasa Cγ (PLCγ) se activa también cuando se une al receptor de EGF. Como su correspondiente en los receptores ligados a la proteína G (Fig. 16-12), la PLCγ activa hidroliza el PIP_2 para formar DAG e IP_3. El DAG activa la proteína quinasa C (PKC), la enzima que activa diversas proteínas que participan en el crecimiento y proliferación celulares.

Las cascadas de fosforilación se inducen por la activación de ras y el aumento de las concentraciones de DAG e IP_3 en la célula tras la unión de EGF. Una de las enzimas clave que se activan en la cascada de fosforilación es MAPKK (proteína quinasa activada por mitógenos). (Un **mitógeno** es una molécula que estimula la división celular.) La MAPKK activa, fosforila posteriormente una tirosina y un triptófano de la MAP quinasa. (Esta reacción poco habitual parece asegurar que la MAP quinasa sólo se active por la MAPKK.) La MAP quinasa activa fosforila a continuación diversas proteínas celulares. Entre éstas están jun, fos y myc. Las proteínas jun y fos fosforiladas se combinan a continuación para formar el factor de transcripción AP-1. Éste, estimula posteriormente la transcripción de diversos genes de respuesta retardada.

PREGUNTA 18.19

Identifique qué tipo de control de la expresión de los genes eucariotas corresponde a cada uno de los siguientes ejemplos:
a. modificaciones covalentes de las proteínas
b. acetilación de histonas
c. unión de diferentes conjuntos de exones
d. metilación de citosina

PREGUNTA 18.20



Los mecanismos por los que la luz influye sobre la expresión de los genes de las plantas se denominan *fotomorfogénesis*. Debido a problemas técnicos serios con los cultivos de células vegetales, se conoce relativamente poco sobre la expresión de los genes de los vegetales. Sin embargo, se han identificado determinadas secuencias de DNA, que se denominan *elementos de respuesta a la luz* (LRE). De acuerdo con los patrones de expresión de los genes que se observan en los animales, ¿puede sugerir (en términos generales) un mecanismo por el que la luz induzca la expresión de los genes? (*Pista*: Recuerde que el fitocromo es un componente importante de la expresión de los genes inducido por la luz.)

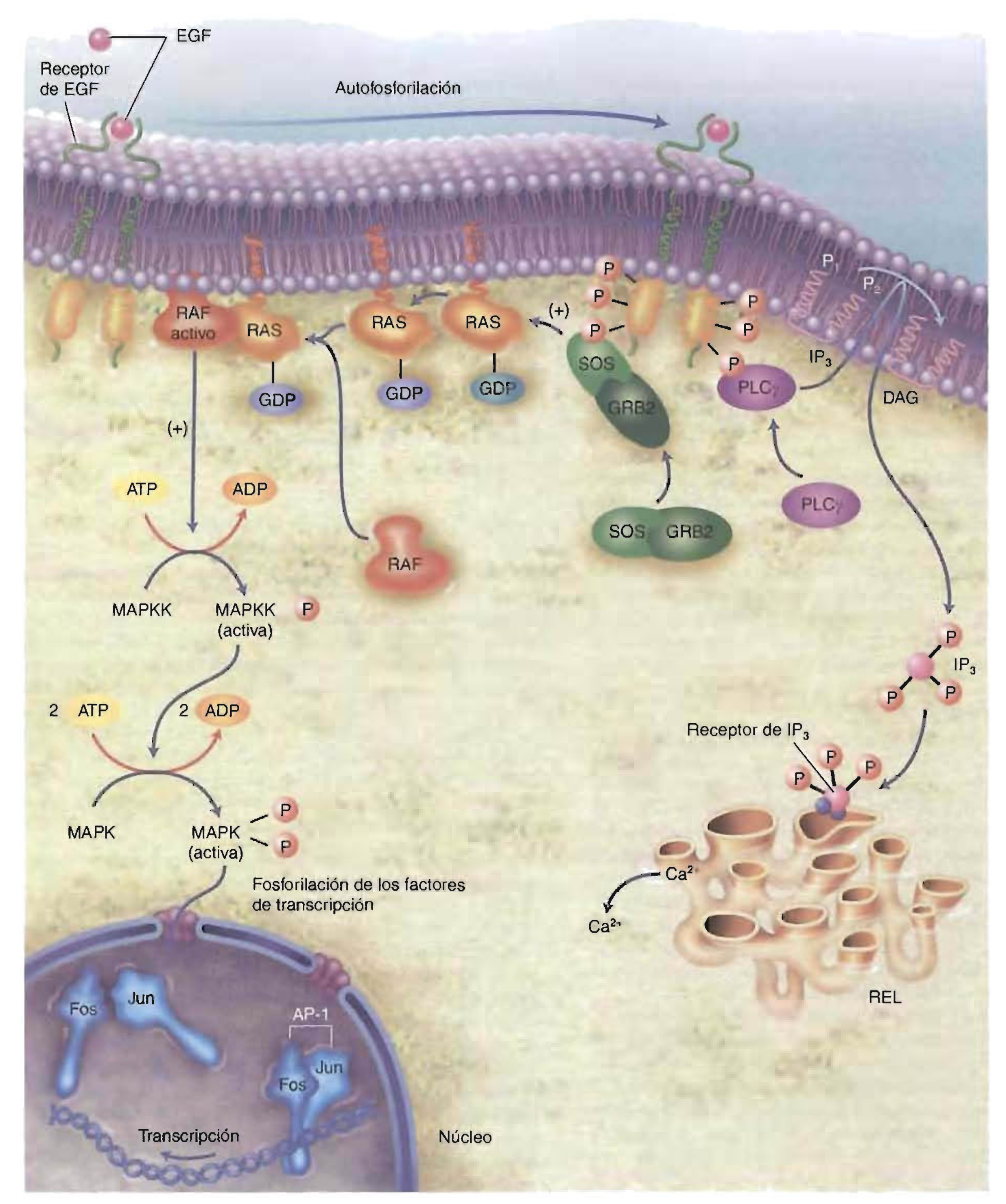


FIGURA 18-33

Expresión de los genes eucariotas desencadenada por la unión de factores de crecimiento.

La ruta de transducción de señal que se perfila en esta figura ilustra los sucesos que se desencadenan cuando un factor de crecimiento (p. ej., EGF) se une a su receptor de la membrana plasmática. Los cambios siguientes de la expresión de los genes que desencadena el factor de crecimiento o la hormona están intermediados de forma característica por varios mecanismos diferentes. En este ejemplo sólo se presentan la activación de ras y de PCLγ. Cuando se une el EGF da lugar a la dimerización del receptor y a la autofosforilación de los residuos de tirosina de su dominio citoplásmico. Una vez fosforilados estos residuos, el receptor se une a diversas proteínas citoplásmicas. Cuando el GRB2 se une al receptor, la SOS (una GNRP) se activa y a su vez activa a ras impulsando el intercambio de GDP por GTP. La ras activada inicia una cascada de fosforilación activando la proteína quinasa RAF, que a su vez activa la MAPKK. Ésta activa a la MAPK, que a su vez activa a diversos factores de transcripción en la activación de diversos factores de transcripción del núcleo (p. ej., fos y jun que forman AP-1). Cuando la PLCγ se une al receptor de EGF cataliza el fraccionamiento de PIP_2 en IP_3 y DAG. IP_3 estimula la liberación de Ca^{2+} al citoplasma. Como se presenta en la Figura 16.12, en presencia de Ca^{2+} y DAG, la proteína quinasa C activa también otra serie de proteína quinasas que a su vez afectan la función de varias proteínas reguladoras.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 18.1. Carcinogenia

El cáncer es un conjunto de enfermedades en las que las células dañadas genéticamente proliferan de forma autónoma. Estas células no pueden responder a los mecanismos reguladores normales para asegurar la cooperación intercelular que se requiere en los organismos multicelulares. Por consiguiente, continúan proliferando, y de esta forma robando a las células normales los nutrientes y, finalmente, invadiendo los tejidos sanos de los alrededores. Dependiendo del daño originado, las células anormales pueden formar tumores benignos o malignos. Los tumores benignos, que son de crecimiento lento y limitado a una localización específica, no se consideran cancerosos, y en pocas ocasiones producen la muerte. Por el contrario, los tumores *malignos* suelen ser fatales debido a que pueden experimentar metástasis. (En la *metástasis*, las células cancerosas emigran a través de la sangre o de los vasos linfáticos a lugares distantes del cuerpo.) Al surgir los nuevos tumores malignos, interfieren con las funciones normales. Cuando los procesos que mantienen la vida fallan, los pacientes mueren.

Los cánceres se clasifican de acuerdo con los tejidos que afectan. La gran mayoría de los tumores cancerosos son carcinomas (tumores procedentes de células tisulares epiteliales como la piel, diversas glándulas, las mamas y la mayoría de los órganos internos.) En las leucemias, los cánceres de la médula ósea, se produce una cantidad excesiva de leucocitos. De forma semejante, los linfocitos producidos en los nódulos linfáticos y el bazo proliferan de forma incontrolada en los linfomas. Los tumores que se originan en el tejido conjuntivo se denominan sarcomas. A pesar de las diferencias entre esta clase diversa de enfermedades, también tienen varias características comunes, entre las cuales están las siguientes:

1. **Propiedades de los cultivos celulares.** Cuando crecen en cultivo, la mayoría de las células tumorales carecen de la inhibición por contacto, es decir, crecen hasta densidades elevadas en masas muy desorganizadas. (Las células normales sólo crecen en cultivo en una única capa e *in vivo* tienen bordes definidos.) Al contrario que las células normales, el crecimiento y la división de las células cancerosas tienden a ser independientes del factor de crecimiento, y estas células con frecuencia no requieren la unión a una superficie sólida. Sin embargo, la característica distintiva de las células cancerosas es su inmortalidad. Las células normales sólo se dividen un número finito de veces, mientras que las células cancerosas pueden proliferar de forma indefinida.
2. **Origen.** Cada tumor se origina a partir de una única célula dañada. En otras palabras, un tumor es un clon procedente de una célula en el que se han producido cambios hereditarios. El daño genético consiste en mutaciones (p. ej., mutaciones puntuales, deleciones e inversiones) y reordenamientos cromosómicos o pérdidas. Estos cambios dan lugar a la pérdida o a la alteración de la función de moléculas que participan en el crecimiento y la proliferación celulares. Los tumores generalmente se forman durante un largo tiempo y comportan diversos tipos independientes de daños genéticos. (El riesgo de muchos tipos de cáncer aumenta con la edad.)

El proceso de transformación en el que una célula aparentemente normal se convierte o «transforma» en una célula maligna consta de tres fases: iniciación, promoción y progresión.

Durante la fase de *iniciación* de la carcinogenia, un cambio permanente del genoma de una célula la proporciona una ventaja de crecimiento sobre sus vecinas. La mayoría de las mutaciones iniciadoras afectan a protooncogenes o genes supresores de tumores. Los protooncogenes codifican diversos factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, enzimas o factores de transcripción que promueven el crecimiento celular y/o la división celular. Las versiones mutadas de los protooncogenes que promueven la proliferación celular anormal se denominan **oncogenes** (Cuadro 1). Debido a que los genes supresores de tumores suprimen la carcinogenia, su pérdida facilita también la aparición del tumor. Recuérdese que Rb y p53 son supresores de tumores. Otros ejemplos son FCC y DCC, que están asociados con la susceptibilidad al cáncer de colon. Se desconocen las funciones de la mayoría de los genes supresores de tumores. Sin embargo, parece que p53 codifica una proteína de 21 kD que normalmente inhibe las enzimas Cdk. Las pruebas recientes indican que otros genes supresores de tumores dañados o perdidos pueden codificar enzimas que participan en los mecanismos de reparación del DNA. El daño que altera la función de los protooncogenes y los genes supresores de tumores lo producen:

1. **Sustancias químicas cancerígenas.** Las mayoría de la sustancias químicas son mutágenas, es decir, alteran la estructura del DNA. Algunos cancerígenos (p. ej., mostaza nitrogenada) son electrófilos muy reactivos que atacan a los grupos del DNA con electrones abundantes (así como del RNA y las proteínas). Otros cancerígenos (p. ej., benzo[a]pireno) son realmente pro-cancerígenos, que se convierten en cancerígenos activos por una o varias reacciones catalizadas por enzimas.
2. **Radiación.** Algunas radiaciones (UV, rayos X y rayos γ) son cancerígenas. Como se ha señalado antes, el daño que producen en el DNA puede consistir en roturas de una cadena o de doble cadena, formación de dímeros de pirimidina y pérdida de bases púricas o pirimidínicas. La exposición a la radiación produce también la formación de ROS. Las ROS pueden ser responsables de la mayoría de los efectos cancerígenos de la radiación.
3. **Virus.** Los virus parecen contribuir a los procesos de transformación de diversas formas. Algunos introducen oncogenes en un cromosoma de una célula hospedadora al insertar su genoma. (Los oncogenes víricos son secuencias semejantes a las de los genes celulares normales que se han tomado accidentalmente de una célula hospedadora previa. Para diferenciar los oncogenes víricos y sus correspondientes celulares, se denominan v-onc y c-onc, respectivamente). Los virus también pueden afectar la expresión de los protooncogenes celulares a través de mutagénesis de inserción, un proceso aleatorio en el que la inserción del genoma del virus inactiva un lugar regulador o altera la secuencia codificadora del

CUADRO 1

Oncogenes seleccionados*

Oncogén	Función
sis	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
erbB	Receptor del factor epidérmico de crecimiento
src	Proteína quinasa específica de tirosina
raf	Proteína quinasa específica de serina/treonina
ras	Proteína de unión de GTP
jun	Factor de transcripción
fos	Factor de transcripción
myc	Proteína de unión al DNA (¿factor de transcripción?)

* Versiones anormales de los protooncogenes que intermedian las transformaciones cancerosas.

protooncogén. La mayoría de los cánceres asociados con los virus se han detectado en animales. Sólo unos pocos cánceres humanos se ha demostrado que están asociados con infecciones víricas.

La aparición de un tumor también puede impulsarse por sustancias químicas que no alteran la estructura del DNA. Los denominados **promotores tumorales** contribuyen a la carcinogenia por dos métodos principales. Activando componentes de las rutas de señalización intracelular, algunas moléculas (p. ej., ésteres de forbol) proporcionan a la célula una ventaja de crecimiento sobre sus vecinas. (Recuerde que los ésteres de forbol activan la PKC debido a que mimetizan las acciones del DAG.) Se desconocen los efectos de otros muchos promotores tumorales pero pueden implicar efectos transitorios como el incremento de las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} o aumentar la síntesis de las enzimas que convierten los pre-cancerígenos en cancerígenos. A diferencia de los agentes iniciadores, los efectos de los promotores tumorales son reversibles. Producen un daño permanente sólo con una exposición prolongada después de que una célula afectada haya experimentado una mutación de iniciación.

Tras la iniciación y promoción, las células pasan a través de un proceso que se denomina progresión. Durante la *progresión*, las células precancerosas genéticamente vulnerables, que ya poseen ventajas de crecimiento significativas sobre las células normales, se dañan aún más. Finalmente, la exposición continuada a los cancerígenos y a los promotores hace inevitable más mutaciones aleatorias. Si estas mutaciones afectan a la capacidad proliferativa o diferenciadora celular, la célula afectada puede hacerse lo suficientemente maligna para producir un tumor. En la Figura 181 se perfila una secuencia propuesta de los acontecimientos en la aparición del cáncer colorrectal.

Una onza de prevención...

Debido al enorme coste y al éxito limitado del tratamiento del cáncer, ha quedado cada vez más claro que la prevención del cáncer es rentable. La investigación más reciente indica que la mayoría de los casos de cáncer son evitables. Por ejemplo, alrededor de un tercio de la mortalidad por cáncer está producida directamente por el tabaco, y otro tercio de muertes por cáncer se ha ligado a las alimentaciones inadecuadas. El humo del tabaco, que contiene miles de sustancias químicas, muchas de las cuales son cancerígenas o promotoras de tumores, es responsable de la mayor parte de los casos de cáncer de pulmón y contribuye, entre otros, a los cánceres de páncreas, vejiga y riñón. Las alimentaciones con grandes cantidades de grasas y bajo contenido de fibras se han asociado a un aumento de la incidencia de cánceres de intestino grueso, mama, páncreas y próstata. Otros factores de riesgo alimentario son el bajo consumo de verduras y frutas frescas.

Además de proporcionar vitaminas antioxidantes suficientes, muchas verduras (y en menor medida las frutas) contienen numerosos componentes no nutritivos que inhiben de forma activa la carcinogenia. Algunos inhibidores de la carcinogenia (p. ej., organosulfurados), que se denominan *agentes bloqueantes*, impiden que los cancerígenos reaccionen con el DNA o inhiben la actividad de los promotores de tumores. Otros inhibidores, que se denominan *agentes supresores* (p. ej., inositol hexafosfato), impiden la posterior aparición de los procesos neoplásicos que ya están en curso. Muchos componentes no nutritivos del alimento (p. ej., taninos e inhibidores de la proteasa) poseen efectos bloqueantes y supresores. En general, estas moléculas protegen de forma muy eficaz contra el cáncer debido a que muchos de ellos inhiben la cascada del ácido araquidónico y el daño oxidativo. Las alimentaciones con poca grasa y mucha fibra que tienen abundante hoja verde fresca o cruda, vegetales crucíferos y otros (p. ej., espinacas, brócoli y cebollas), así como las frutas frescas, son una elección adecuada para las personas que buscan reducir su riesgo de padecer cáncer.

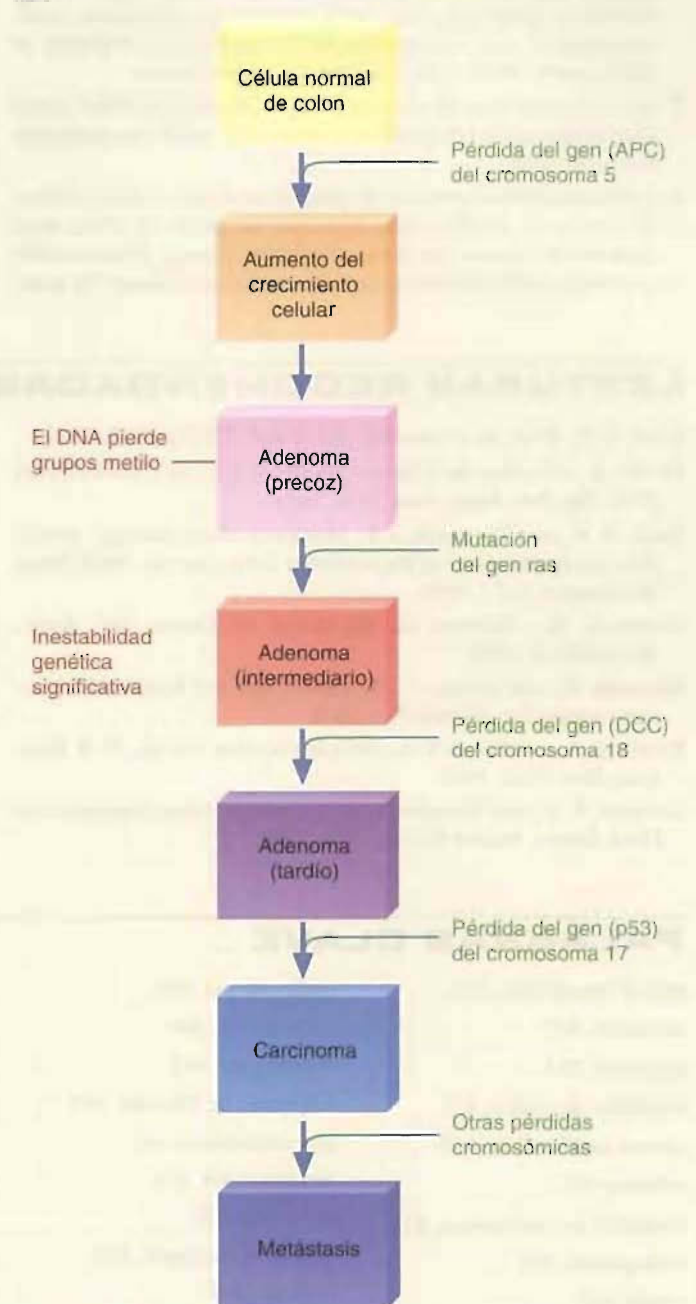


FIGURA 181 Aparación del cáncer colorrectal.
El cáncer colorrectal se va formando con el tiempo. Debido a que las células somáticas son diploides, la pérdida de los genes supresores de tumores APC, DCC y p53 normalmente requiere dos mutaciones. La investigación reciente sugiere que las mutaciones de los genes que participan en los procesos de reparación del DNA pueden tener lugar durante las primeras fases del cáncer de colon. (Un adenoma es un tumor epitelial precanceroso.) Las alimentaciones saludables con abundante folato, antioxidantes y determinados ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en los pescados proporcionan una protección significativa frente al cáncer colorrectal.

RESUMEN

1. La estructura y la función del DNA son tan importantes para los seres vivos que éstos deben poseer mecanismos eficaces para la síntesis rápida y exacta del DNA. La síntesis del DNA, que se denomina replicación, tiene lugar mediante un mecanismo semiconservativo, esto es, cada una de las dos cadenas originales se utiliza como molde para sintetizar una cadena nueva.
2. Existen varios tipos de mecanismos de reparación del DNA. Entre ellos la reparación por escisión, la fotorreactivación y la reparación recombinatoria.
3. La recombinación genética, un proceso en el que se intercambian las secuencias de DNA entre diferentes moléculas de DNA, tiene lugar de dos formas. En la recombinación general, el intercambio se produce entre secuencias de cromosomas homólogos. En la recombinación específica de lugar, el intercambio de secuencias sólo requiere secuencias homólogas cortas. Las interacciones DNA-proteína son principalmente responsables del intercambio de secuencias que no tienen mucha homología.
4. La síntesis del RNA, que se denomina transcripción del DNA, requiere varias proteínas. La iniciación de la transcripción comporta la unión de una RNA polimerasa a una secuencia específica de DNA que se denomina promotor. La regulación de la transcripción es significativamente diferente en procariotas y eucariotas.
5. El control de la transcripción es aún poco comprendido; sin embargo, debido a que se ha investigado mucho en este campo, se conocen muchos de los detalles de varios casos de expresión de los genes, tanto en procariotas como en eucariotas.

LECTURAS RECOMENDADAS

Cech, T. R., RNA as an Enzyme, *Sci. Amer.*, 255(5):64-75, 1986.

Davies, K., *Cracking the Genome: Inside the Race to Unlock Human DNA*, The Free Press, New York, 2001.

Glick, B. R., and Pasternak, J. J., *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*, 2nd ed., ASM Press, Washington, D.C., 1998.

Grunstein, M., Histones as Regulators of Genes, *Sci. Amer.*, 267(4):68-74, 1992.

Hamadeh, H., and Afshari, C. A., Gene Chips and Functional Genomics, *Amer. Sci.*, 88:508-515, 2000.

Kornberg, A., and Baker, T. A., *DNA Replication*, 2nd ed., W.H. Freeman, New York, 1992.

Lockhart, D. J., and Winzeler, E. A., Genomics, Gene Expresion and DNA Arrays, *Nature* 405:827-836, 2000.

Loewenstein, W. R., *The Touchstone of Life: Molecular Information, Cell Communication, and the Foundations of Life*, Oxford University Press, New York, 1999.

McKnight, S. L., Molecular Zippers in Gene Regulation, *Sci. Amer.*, 264(4):54-64, 1991.

Moses, P. B., and Chua, N.-H., Light Switches for Plant Genes, *Sci. Amer.*, 258(4):88-93,1988.

Ptashne, M., How Eukaryotic Transcriptional Activators Work, *Nature*, 335:683-689, 1988.

Vos, J.-M. H., *DNA Repair Mechanisms: Impact on Human Disease and Cancer*, R. G. Landes, Austin, 1995.

Watson, J. D., Gilman, M., Witkowski, J, and Zoller, M., *Recombinant DNA*, 2nd ed, W.H. Freeman, New York, 1992.

Zweiger, G., *Transducing the Genome: Information, Anarchy, and Revolution in the Biomedical Research*, McGraw-Hill, New York, 2001.

PALABRAS CLAVE

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Defina claramente los siguientes términos:
   a. quimiorreceptores
   b. genes estructurales
   c. recombinación
   d. replicación semiconservativa
   e. replisoma
   f. oriC
   g. transcripción
   h. protooncogén
   i. espliceosoma
   j. oncogén
2. ¿Cómo impulsa el superenrollamiento negativo la iniciación de la replicación?
3. Explique cómo apoya el experimento de Meselson-Sthal el modelo semiconservativo de la replicación del DNA.
4. Dé una relación y describa los pasos en la replicación procariota del DNA. ¿En qué se diferencia este proceso de la replicación eucariota del DNA?
5. Indique la fase de la replicación del DNA en la que es activa cada una de las enzimas siguientes:
   a. helicasa
   b. primasa
   c. DNA polimerasas
   d. ligasa
   e. topoisomerasa
   f. DNA girasa
6. El DNA se polimeriza en la dirección $5' \rightarrow 3'$. Demuestre con la incorporación de tres nucleótidos en una cadena sencilla de DNA cómo se deduce la direccionalidad $5' \rightarrow 3'$.
7. Las mutaciones están producidas por fenómenos físicos y químicos. Indique el tipo de mutación que puede producir cada una de las reacciones o moléculas siguientes:
   a. ROS
   b. cafeína
   c. un agente alquilante pequeño
   d. un agente alquilante grande
   e. ácido nitroso
   f. agentes intercalantes
8. ¿Cómo producen mutaciones los virus?
9. Existen tres mecanismos principales de reparación del DNA. ¿Cómo y cuándo actúan?
10. Describa dos formas de recombinación genética. ¿Qué funciones realizan?
11. Aunque se requiere la variación genética para que las especies se adapten a las variaciones del entorno, la mayoría de los cambios genéticos son perjudiciales. Explique por qué las mutaciones genéticas son con poca frecuencia beneficiosas.
12. La recombinación general tiene lugar en bacterias, donde participa en varios tipos de transferencia de DNA entre los microorganismos. ¿Cuáles son estos tipos de transferencia y por medio de qué mecanismos se producen?
13. ¿Cuáles son los dos tipos de mecanismos de transposición y por qué mecanismos se producen?
14. Dentro de las células la citosina se convierte lentamente en uracilo. ¿A qué tipo de mutación conduciría en las moléculas de DNA? ¿Por qué no es un problema en el RNA?
15. Se ha encontrado una correlación entre las distintas especies entre la duración de la vida y la eficacia de los sistemas de reparación del DNA. Sugiera una razón por la que esto sea así?
16. ¿Cuáles son las semejanzas y diferencias entre la replicación celular del DNA y la PCR?
17. Describa la finalidad de los genes marcadores en la tecnología del DNA recombinante.
18. Defina y describa las funciones de los siguientes componentes de la replicación:
    a. DNA ligasa
    b. DNA polimerasa III
    c. proteínas SSB
    d. primasa
    e. helicasa
    f. RPA
    g. fragmentos de Okazaki
19. Defina y describa las funciones de lo siguiente en la transcripción:
    a. factores de transcripción
    b. RNA polimerasa
    c. promotor
    d. factor sigma
    e. potenciador
    f. caja TATA
20. Proporcione una relación de los pasos del procesamiento de un mRNA precursor típico que le prepara para su función.
21. Describa las ventajas y desventajas para los organismos de la disposición de los genes en operones.
22. Determine la magnitud de la amplificación de una única molécula de DNA que puede conseguirse con la PCR durante cinco ciclos.

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. En el experimento de Meselson-Stahl, ¿por qué se eligió un isótopo de nitrógeno en lugar de un isótopo de carbono?
2. La síntesis bidireccional del DNA supone que una cadena se sintetiza en la dirección $5' \rightarrow 3'$ y la otra en la dirección $3' \rightarrow 5'$. Sin embargo, todas las enzimas que se conocen que sintetizan DNA lo hacen en la dirección $5' \rightarrow 3'$. ¿Cómo explicó esta paradoja Reiji Okazaki?
3. En los eucariotas la velocidad de la replicación del DNA es de 50 nucleótidos por segundo. ¿Cuánto tarda la replicación de un cromosoma de 150 millones de pares de bases? Si los cromosomas de los eucariotas se replicaran como los de los procariotas, la replicación del genoma tardaría varios meses. Realmente, la replicación eucariota dura varias horas. ¿Cómo consiguen esta velocidad elevada los eucariotas?
4. Parece existir material genético insuficiente para dirigir todas las actividades de varias clases de células eucariotas. Explique cómo ayuda la recombinación genética a resolver este problema.
5. El gas mostaza es una sustancia extremadamente tóxica que daña gravemente el tejido pulmonar cuando se inhala en grandes cantidades. En cantidades pequeñas, el gas mostaza es un mutágeno y un cancerígeno. Considerando que el gas mostaza es un agente alquilante bifuncional, explique cómo inhibe la replicación del DNA.

6. Las bases pirimidínicas adyacentes en el DNA forman dímeros con eficacia elevada tras la exposición a la luz UV. Si no se reparan estos dímeros, puede producirse cáncer de piel. La melanina es un filtro solar que producen los melanocitos, una clase de célula de la piel, cuando la piel se expone a la luz solar. Las personas que pasan largos períodos durante muchos años tostándose la piel finalmente adquieren una piel fina y muy quebradiza. Estas personas tienen también un gran riesgo de padecer cáncer de piel. ¿Puede explicar, en términos generales, por qué están relacionados estos fenómenos?

7. Los ésteres de forbol inducen la transcripción de genes influidos por la AP-1. Explique cómo podría tener lugar este proceso. ¿Cuáles son las consecuencias de la transcripción de AP-1? ¿Qué papel tiene la exposición intermitente a los ésteres de forbol sobre la salud de una persona?

8. Debido al abuso de antibióticos y/o al debilitamiento de la vigilancia gubernamental de las enfermedades infecciosas, varias enfermedades que se pensaba no eran ya una amenaza para el ser humano (p. ej., neumonía y tuberculosis) están haciéndose inmanejables con rapidez. En varios casos, se han detectado los denominados super-microbios (microorganismos que son resistentes a casi todos los antibióticos conocidos) ¿Por qué han surgido estas circunstancias? ¿Qué sucederá en el futuro si continúa este proceso?

9. El retinoblastoma es un cáncer poco frecuente en el que aparecen tumores en la retina del ojo. Los tumores surgen debido a la pérdida del gen Rb, que codifica un supresor de tumores. El retinoblastoma hereditario normalmente se produce durante la infancia. Estos niños sólo heredan una copia funcional de Rb. Explique por qué el retinoblastoma no hereditario normalmente se produce en épocas posteriores de la vida.

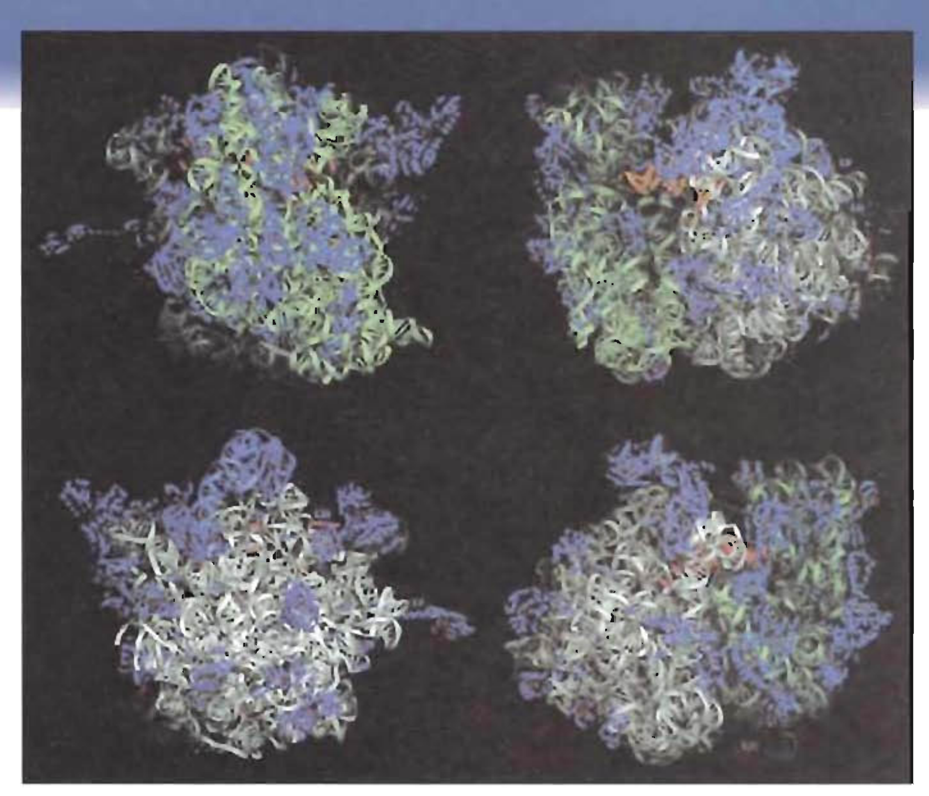
10. Explique las diferencias entre los potenciales efectos sobre el organismo de una persona de los errores que se producen durante la replicación y aquellos que tienen lugar durante la transcripción.

11. Explique cómo una actividad transcriptasa inversa dentro de una célula puede dar lugar a la amplificación de los genes.

12. Utilizando las herramientas que se describen en el Capítulo 18, describa en términos generales cómo puede un investigador cartografiar el genoma de un organismo descubierto recientemente.

CAPÍTULO DIECINUEVE

Síntesis de proteínas



El ribosoma. Los ribosomas son máquinas moleculares ribonucleoproteicas que sintetizan las proteínas en todas las células. En esta serie de rotaciones de 90° de la estructura de elevada resolución del ribosoma completo 70S de la bacteria termófila *Thermus thermophilus*, las proteínas se señalan de color azul oscuro y fucsia, y las moléculas de rRNA de color azul verdoso, gris y azul claro. Los tRNA son de color naranja y rojo. Obsérvese que el ribosoma está compuesto principalmente por rRNA, el cual realiza la mayoria de las actividades catalíticas. Las moléculas de proteína actúan, en gran medida, como soporte.

SUMARIO

Las proteínas son la clase más dinámica y variada de biomoléculas. Como se ha descrito, además de proporcionar componentes estructurales, las proteínas son en gran medida responsables de promover muchos de los aspectos más dinámicos de los procesos vivos. Las funciones que desempeñan las proteínas en los seres vivos son asombrosas. Además de las increíblemente diversas proteínas catalíticas, los receptores proteicos intermedian las acciones de un número incontable de moléculas señalizadoras, muchas de las cuales también son proteinas. La singularidad de cada tipo celular se debe casi enteramente a las proteínas que produce. Por lo tanto, no es sorprendente que la expresión de la mayoria de los genes altere los patrones de síntesis proteica. Debido a su importancia estratégica en la economia celular, la síntesis de proteínas es un proceso regulado. Aunque el control es también de importancia fundamental a nivel de la transcripción, el control de la traducción de los mensajes genéticos permite otras oportunidades de regulación. Esto es especialmente así en los eucariotas multicelulares, cuyos estilos de vida complejos requieren mecanismos de regulación extraordinariamente diversos.

La síntesis de proteínas es un proceso extraordinariamente complejo en el que la información genética codificada en los ácidos nucleicos se traduce en el «alfabeto» de 20 aminoácidos de los polipéptidos. Además de la traducción (el mecanismo por el que una secuencia de bases de nucleótidos dirige la polimerización de los aminoácidos), la síntesis de proteínas puede también considerarse que incluye los procesos de modificación y de direccionamiento posteriores a la traducción. La *modificación posterior a la traducción* consiste en modificaciones químicas que utilizan las células para preparar a los polipéptidos para sus papeles funcionales. Varias modificaciones ayudan en el *direccionamiento*, que lleva a las moléculas recién sintetizadas a una localización específica intracelular o extracelular.

En conjunto, al menos 100 moléculas diferentes participan en la síntesis de proteínas. Entre las más importantes se encuentran las componentes de los ribosomas, estructuras supramoleculares formadas por RNA y proteínas que descodifican de forma rápida y precisa los mensajes genéticos. Se requiere rapidez debido a que los organismos deben responder de forma expedita a las condiciones del entorno constantemente cambiantes. Por ejemplo, en los procariotas como *E. coli*, un polipéptido de 100 residuos se sintetiza en unos 6 segundos. La precisión de la traducción es esencial debido a que, como se ha descrito antes, el plegamiento exacto y, por lo tanto, el funcionamiento adecuado de cada polipéptido viene determinado por la secuencia primaria de la molécula.

Los ribosomas que se descubrieron en los años 1950 han sido desde entonces el objetivo de intensas investigaciones bioquímicas y biofísicas. Un primer descubrimiento fue que la estructura del ribosoma parece estar muy conservada desde el punto de vista evolutivo. Aunque existen diferencias notables entre los ribosomas de varias especies, las semejanzas en las estructuras tridimensionales de los rRNA y de las proteínas ribosómicas son aún más señaladas. Como se ha indicado (págs. 594-595), a pesar de las diferencias de las secuencias de bases de los rRNA, la estructura secundaria de estas moléculas es asombrosamente semejante. Las investigaciones más recientes han descubierto una faceta aún más interesante de la estructura y la función del ribosoma. Debido a las propiedades catalíticas de las proteínas, se suponía desde el comienzo de la investigación sobre los ribosomas que el aspecto principal de la función ribosómica, es decir, la formación del enlace peptídico, está catalizada por una proteína ribosómica. El rRNA se pensaba servía como un armazón estructural para el proceso de traducción. Sin embargo, está empezando a hacerse cada vez más claro que el rRNA lejos de ser un andamiaje inerte para la síntesis de proteínas, desempeña una función fundamental y muy activa. Por ejemplo, se ha descubierto recientemente que la peptidil transferasa, la actividad enzimática que cataliza la formación de los enlaces peptídicos, reside en el rRNA 23S de los ribosomas bacterianos. La eliminación de las proteínas de los ribosomas bacterianos (que dejan las moléculas de rRNA que quedan relativamente intactas) no afecta sustancialmente su capacidad para catalizar la síntesis de proteínas. Además, varias pruebas han conectado moléculas específicas de rRNA con funciones en la unión de los tRNA y mRNA, la asociación de las subunidades ribosómicas, la lectura de pruebas y algunos aspectos reguladores de la traducción (p. ej., unión de los factores de traducción). Los estudios estructurales de elevada resolución del ribosoma de *E. coli* han descubierto que dos tercios de la masa de los ribosomas están formados por RNA.

Como resultado de éstos y otros muchos avances conceptuales importantes, en la actualidad está claro que el ribosoma es quizás la máquina molecular más sofisticada que existe. Impulsada por el GTP y actuando con diversos factores de traducción, el ribosoma es un dispositivo ribonucleoproteico dinámico que fabrica las moléculas funcionales más importantes de los seres vivos.

El Capítulo 19 proporciona una visión general de la síntesis de proteínas. El capítulo comienza con una consideración del código genético, el mecanismo mediante el cual las secuencias de bases de los ácidos nucleicos especifican las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos. Sigue luego la exposición de la síntesis de proteínas tal como tiene lugar en procariotas y eucariotas, y una descripción de los mecanismos que convierten a los polipéptidos en sus conformaciones plegadas biológicamente activas. El Capítulo 19 finaliza con una introducción a la **proteómica**,

CONCEPTOS CLAVE 19.1

En los organismos actuales, las proteínas se sintetizan por los ribosomas, que traducen una secuencia de bases de RNA en una secuencia de aminoácidos.

una tecnología relativamente nueva que se ha puesto a punto para caracterizar los productos proteicos del genoma.

19.1. EL CÓDIGO GENÉTICO

Durante las primeras investigaciones sobre la síntesis de proteínas quedó claro que la traducción es fundamentalmente diferente del proceso de transcripción que la precede. Durante la transcripción, el lenguaje de las secuencias del DNA se convierte en el dialecto muy relacionado de secuencias de RNA. Sin embargo, durante la síntesis de proteínas, una secuencia de bases de ácido nucleico se convierte en un lenguaje claramente diferente (es decir, una secuencia de aminoácidos), de ahí el término *traducción*. Dado que las moléculas de mRNA y de aminoácidos poseen muy poca afinidad natural entre ellas, los investigadores (p. ej., Francis Crick) predijeron que debían intermediar el proceso de traducción un conjunto de moléculas adaptadoras. Esta función se asignó finalmente a las moléculas de tRNA (Fig. 17-22).

Sin embargo, antes de que pudieran identificarse las moléculas adaptadoras, debía resolverse un problema más importante: el desciframiento del código genético. El **código genético** puede describirse como un diccionario codificador que especifica un significado para la secuencia de bases. Una vez admitida la importancia del código genético, los investigadores especularon sobre sus dimensiones. Dado que en el mRNA sólo hay cuatro bases diferentes (G, C, A y U) y deben especificarse 20 aminoácidos, parecía que cada aminoácido debía estar codificado por una combinación de bases. Una secuencia de dos bases podría especificar sólo un total de 16 aminoácidos (esto es, $4^2 = 16$). Sin embargo, una secuencia de tres bases proporcionaría combinaciones de bases más que suficientes para la traducción (esto es, $4^3 = 64$).

El primer acontecimiento importante en la asignación de secuencias de bases tripletes (que posteriormente se denominaron **codones**) se produjo en 1961 cuando Marshall Nirenberg y Heinrich Matthaei realizaron un conjunto de experimentos utilizando un sistema de análisis artificial que contenía un extracto de *E. coli* fortalecido con nucleótidos, aminoácidos, ATP y GTP. Mostraron que poli U (un polinucleótido sintético cuyas bases componentes constaban sólo de uracilo) dirigía la síntesis de polifenilalanina. Suponiendo que los codones constan de una secuencia de tres bases, Niremberg y Matthaei supusieron que UUU codifica el aminoácido fenilalanina. A continuación, repitieron su experimento utilizando poli A y poli C. Dado que los productos resultantes fueron polilisina y poliprolina, se asignaron los codones AAA y CCC a lisina y prolina, respectivamente.

La mayoría de las asignaciones de los codones que quedaban se determinaron utilizando polinucleótidos sintéticos con secuencias repetitivas. Estas moléculas se formaron amplificando de forma enzimática secuencias cortas sintetizadas de forma química. Se analizaron a continuación los polipéptidos que se formaban, que contenían segmentos peptídicos repetidos. La información que se obtuvo con esta técnica, ideada por Har Gobind Khorana, se complementó posteriormente con una estrategia utilizada por Nirenberg. Esta última técnica midió la capacidad de trinucleótidos específicos para impulsar la unión de tRNA a los ribosomas.

En el Cuadro 19-1 se presenta la asignación de codones de las 64 secuencias de trinucleótidos posibles. De éstas, 61 codifican aminoácidos. Los tres codones restantes (UAA, UAG y UGA) son señales de *parada* (de terminación de la cadena polipeptídica). AUG, el codón de metionina, sirve también como señal de *comienzo* (que algunas veces se denomina *codón de iniciación*). El código genético posee las siguientes propiedades:

1. Degenerado. Se dice que cualquier sistema de codificación es degenerado cuando diversas señales tienen el mismo significado. El código genético es parcialmente degenerado debido a que la mayoría de los aminoácidos están codificados por varios codones. Por ejemplo, la leucina está codificada por seis codones diferentes (UUA, UUG, CUU, CUC, CUA y CUG). De hecho, la metionina (AUG) y el triptófano (UGG) son los únicos aminoácidos que están codificados por un único codón.

CUADRO 19-1

Código genético

Primera posición (extremo 5')	Segunda posición: U		C		A		G		Tercera posición (extremo 3')
	UUU	Phe	UCU		UAU	Tyr	UGU	Cys	U
U	UUC		UCC	Ser	UAC		UGC		C
	UUA	Leu	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP	A
	UUG		UCG		UAG		UGG	Trp	G
	CUU		CCU		CAU	His	CGU		U
C	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC		CGC	Arg	C
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
	AUU		ACU		AAU	Asn	AGU	Ser	U
A	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G
	GUU		GCU		GAU	Asp	GGU		U
G	GUC	Val	GCC	Ala	GAC		GGC	Gly	C
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

2. Específico. Cada codón es una señal para un aminoácido específico. La mayoría de los codones que codifican el mismo aminoácido poseen secuencias semejantes. Por ejemplo, en cada uno de los cuatro codones de serina (UCU, UCC, UCA y UCG) la primera y la segunda base son idénticas. Por consiguiente, una mutación puntual en la tercera base de un codón de serina no sería lesiva.

3. No solapante y sin puntuación. La secuencia codificante del mRNA se «lee» por un ribosoma que comienza desde el codón de iniciación (AUG) como una secuencia continua cogiendo cada vez tres bases hasta que se llega a un codón de parada. Se denomina **marco de lectura** a un conjunto de codones triplete contiguos en un mRNA. El término **marco de lectura abierto** describe un conjunto de secuencias de bases tripletes de un mRNA que contiene un codón de parada.

4. Universal. Con unas pocas excepciones menores, el código genético es universal. En otras palabras, el examen del proceso de traducción en las especies investigadas ha descubierto que las señales de codificación de los aminoácidos son siempre las mismas.

CONCEPTOS CLAVE 19.2

El código genético es un mecanismo mediante el cual los ribosomas traducen las secuencias de bases de los nucleótidos en la secuencia primaria de los polipéptidos.

PREGUNTA 19.1

¿A cuál de los siguientes procesos se refiere el término *traducción*?
a. DNA → RNA
b. RNA → DNA
c. proteínas → RNA
d. RNA → proteínas

PREGUNTA 19.2

Explique los siguientes términos:
a. codón
b. código degenerado
c. marco de lectura
d. marco de lectura abierto
e. código universal

PREGUNTA 19.3

Como se ha descrito, el daño del DNA puede producir la pérdida o inserción de pares de bases. Si una secuencia de bases de nucleótidos de una región codificadora cambia en un número de bases diferente de tres, se produce una mutación de desplazamiento del marco. Dependiendo de la localización del cambio de la secuencia, esas mutaciones pueden tener efectos importantes. La secuencia sintética siguiente de mRNA codifica el comienzo del polipéptido:

5′-AUGUCUCCUACUGCUGACGAGGGAAGGAGGUGGCUUAUCAUGUUU-3′

En primer lugar, determine la secuencia de aminoácidos del polipéptido. Luego determine el tipo de mutaciones que se han producido en los siguientes segmentos alterados de mRNA. ¿Qué efecto tienen estas mutaciones sobre los productos polipeptídicos?

a. 5′-AUGUCUCCUACUUGCUGACGAGGGAAGGAGGUGGCUUAUCAUGUUU-3′
b. 5′-AUGUCUCCUACUGCUGACGAGGGAGGAGGUGGCUUAUCAUGUUU-3′
c. 5′-AUGUCUCCUACUGCUGACGAGGGAAGGAGGUGGCCCUUAUCAUGUUU-3′
d. 5′-AUGUCUCCUACUUGCUGACGGAAGGAGGUGGCUUAUCAUGUUU-3′

Interacciones codón-anticodón

Las moléculas de tRNA son los «adaptadores» que se requieren para la traducción del mensaje genético. Recuerde que cada tipo de tRNA transporta un aminoácido específico (en el 3′ terminal) y posee una secuencia de tres bases que se denomina **anticodón**. El apareamiento de bases entre el anticodón del tRNA y el codón del mRNA es responsable de la traducción de la información genética de los genes estructurales. Aunque los apareamientos codón-anticodón son antiparalelos, ambas secuencias se dan en la dirección 5′ → 3′. Por ejemplo, el codón UGC se une al anticodón GCA (Fig. 19-1).

Una vez que se determinó el código genético, los investigadores anticiparon la identificación de 61 tipos de tRNA en las células. Sin embargo, descubrieron que las células suelen funcionar con un número de tRNA sustancialmente menor del predicho. La mayoría de las células poseen alrededor de 50 tRNA, aunque se han observado cantidades menores. Una investigación posterior de los tRNA descubrió que el anticodón de algunas moléculas contiene nucleótidos poco habituales como inosinato (I), que se encuentran de forma característica en la tercera posición del anticodón. (En los eucariotas, la A de la tercera posición del anticodón se desamina para formar I). Al investigarse los tRNA se hizo cada vez más claro que algunas moléculas reconocen varios codones. En 1966, tras revisar las pruebas, Crick propuso una explicación racional, la **hipótesis del bamboleo**.

La hipótesis del bamboleo, que permite múltiples interacciones codón-anticodón por los tRNA, se basa principalmente en las siguientes observaciones:

1. Los dos primeros apareamientos de bases en una interacción codón-anticodón confieren la mayor parte de la especificidad que se requiere durante la traducción. Recuérdese que la mayoría de los codones redundantes que especifican un determinado aminoácido poseen nucleótidos idénticos en las dos primeras posiciones. Estas interacciones son los apareamientos de base estándar (los de Watson y Crick).
2. Las interacciones entre los nucleótidos del tercer codón y el anticodón son menos estrictos. De hecho, suelen producirse apareamientos de bases no tradicionales (que no son de Watson y Crick). Por ejemplo, los tRNA que contienen G en la posición 5′ del anticodón (o «de bamboleo») pueden formar apareamiento de bases con dos codones diferentes (esto es, G puede interactuar con C o con U). Lo mismo ocurre con U, que puede interactuar con A o con G. Cuando se encuentra I en la posición de bamboleo de un anticodón, un tRNA puede formar apareamiento de bases con tres codones diferentes, debido a que I puede interactuar con U o A o C.

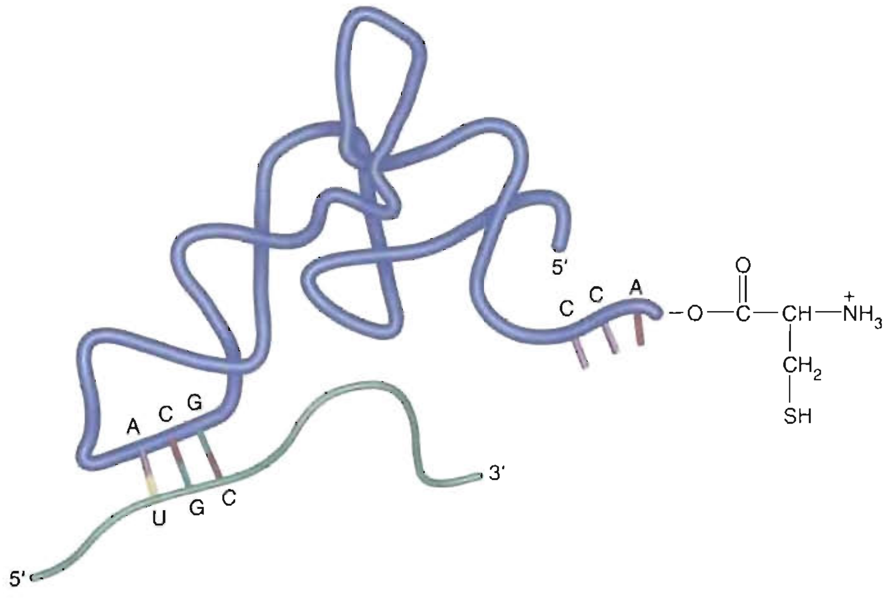


FIGURA 19-1

Apareamiento de bases codón-anticodón del cisteinil-tRNA^{cys}.

El apareamiento del codón UGC con el anticodón GCA asegura que el aminoácido cisteína se incorporará en una cadena polipeptídica en crecimiento.

CONCEPTOS CLAVE 19.3

El código genético se traduce por interacciones de apareamiento de bases entre los codones del mRNA y los anticodones de los tRNA. La hipótesis del bamboleo explica por qué las células normalmente tienen menos tRNA de los esperados.

Una observación detenida del código genético y de las «reglas de bamboleo» indica que para traducir los 61 codones se requiere un mínimo de 31 tRNA. Otro tRNA para iniciar la síntesis de proteínas eleva el total a 32 tRNA.

Los genomas de los cloroplastos y las mitocondrias codifican menos tRNA que los genomas nucleares. Los cloroplastos poseen alrededor de 30 tRNA, mientras que las mitocondrias sólo tienen 24. Se ha sugerido que las mitocondrias pueden actuar con un complemento reducido de tRNA debido al menor tamaño de sus genomas. Los cloroplastos y las mitocondrias también son singulares en otro punto. Muchas de las variaciones del código genético que se conocen aparecen en estos orgánulos. Las variaciones más dramáticas y mejor documentadas están en las mitocondrias de los animales. Por ejemplo, en las mitocondrias del ser humano y de otros vertebrados, AUA y UGA codifican metionina y triptófano en lugar de isoleucina y una señal de parada, respectivamente. De forma semejante, dos codones (AGA y AGG), que normalmente codifican arginina, en su lugar codifican señales de parada. En el momento actual no está claro el significado de estas alteraciones.

Reacción de la aminoacil-tRNA sintetasa: el segundo código genético

Aunque la exactitud de la traducción (aproximadamente un error por 10^4 aminoácidos incorporados) es menor que la de la replicación y la transcripción, es notablemente mayor que la que se esperaría para un proceso tan complejo. Las razones principales de la exactitud con la que se incorporan los aminoácidos en los polipéptidos están en el apareamiento de bases codón-anticodón y en el mecanismo por el que los aminoácidos se unen a sus correspondientes tRNA. La unión de los aminoácidos a los tRNA, que se considera el primer paso de la síntesis de proteínas, está catalizada por un grupo de enzimas que se denominan aminoacil-tRNA sintetasas. La precisión con la que estas enzimas esterifican cada aminoácido específico con el tRNA correcto se cree que es tan importante para una traducción exacta que su funcionamiento se ha denominado de forma genérica el **segundo código genético**.

En la mayoría de los organismos existen al menos una aminoacil-tRNA sintetasa para cada uno de los 20 aminoácidos. (Cada enzima liga su aminoácido específico a

FIGURA 19-2

Formación de un aminoacil-tRNA.

Cada aminoacil-tRNA sintetasa cataliza dos reacciones secuenciales en las que un aminoácido se liga al residuo 3′-terminal de la ribosa de la molécula de tRNA.

un tRNA adecuado. Esto es importante debido a que en la mayoría de las células muchos aminoácidos poseen cada uno varios tRNA.) El proceso que liga un aminoácido al extremo 3′ del tRNA correcto consta de dos reacciones secuenciales (Fig. 19-2), que se producen dentro del lugar activo de la sintetasa:

1. **Activación**. La sintetasa cataliza en primer lugar la formación de aminoacil-AMP. Esta reacción, que activa al aminoácido por la formación de un enlace anhídrido mixto de elevada energía, se lleva a término por la hidrólisis de su otro producto, el pirofosfato. (Un **anhídrido** es una molécula que contiene dos grupos carbonilos ligados a través de un átomo de oxígeno. El término **anhídrido mixto** describe a un anhídrido de dos ácidos diferentes, por ejemplo, un ácido carboxílico y un ácido fosfórico.)
2. **Unión del tRNA**. Un tRNA específico, unido también en el lugar activo de la sintetasa, queda unido al grupo aminoacilo a través de un enlace éster. (Dependiendo de la sintetasa, el enlace éster puede ser a través del 2′-OH o del 3′-OH de la ribosa del nucleótido 3′-terminal del tRNA. A continuación, el grupo aminoacilo puede emigrar entre los grupos 2′-OH y 3′-OH. Sólo se utilizan durante la traducción los 3′-aminoacil ésteres). Aunque el enlace aminoacil éster con el tRNA es de menor energía que el anihídrido mixto del aminoacil AMP, aún posee energía suficiente para participar en reacciones de transferencia de acilo (formación del enlace peptídico).

La suma de las reacciones catalizadas por las aminoacil-tRNA sintetasas es como sigue:

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} + \text{tRNA} \longrightarrow \text{aminoacil-tRNA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

El producto PP_i se hidroliza inmediatamente con una gran pérdida de energía libre. Por consiguiente, la carga del tRNA es un proceso irreversible. Debido a que el AMP es un producto de esta reacción, el precio metabólico de la unión de cada aminoácido a su tRNA es el equivalente a la hidrólisis de dos moléculas de ATP a ADP y P_i.

Las aminoacil-tRNA sintetasas son un grupo diverso de enzimas que varían en su peso molecular, su secuencia primaria y el número de subunidades. A pesar de esta diversidad, cada enzima produce de forma eficaz un producto aminoacil-tRNA específico de una forma relativamente exacta. Como se ha mencionado, la especificidad con la que cada una de las sintetasas une el aminoácido correcto y su correspondiente tRNA es crucial para la fidelidad del proceso de traducción. Algunos aminoácidos pueden diferenciarse fácilmente por su tamaño (p. ej., triptófano frente a glicina) o la presencia de cargas positivas o negativas en sus cadenas laterales (p. ej., lisina y aspartato). Sin embargo, otros aminoácidos son más difíciles de discriminar debido a que sus estructuras son semejantes. Por ejemplo, la isoleucina y la valina sólo se diferencian en un grupo metileno. A pesar de esta dificultad, la isoleucil-$tRNA^{ile}$ sintetasa normalmente sintetiza el producto correcto. Sin embargo, esta enzima en ocasiones produce también valil-$tRNA^{ile}$. La isoleucil-$tRNA^{ile}$ sintetasa, así como otras sintetasas, puede corregir este error debido a que posee un lugar independiente de *corrección de pruebas*. Debido a su tamaño, este lugar une valil-$tRNA^{ile}$ y excluye el mayor isoleucil-$tRNA^{ile}$. Tras su unión en el lugar de corrección de pruebas, el enlace éster del valil-$tRNA^{ile}$ se hidroliza.

Las aminoacil-tRNA sintetasas también deben reconocer y unir las moléculas de tRNA correctas (correspondientes). Para algunas enzimas (p. ej., la glutaminil-tRNA sintetasa), la estructura del anticodón es una característica importante del proceso de reconocimiento. Sin embargo, varias enzimas parecen reconocer otros elementos estructurales de los tRNA, por ejemplo, el tallo aceptor, además de o en lugar del anticodón.

PREGUNTA 19.4 La secuencia de un segmento de DNA es GGTTTA. ¿Cuál es la secuencia de los anticodones de los tRNA?

PREGUNTA 19.5 La secuencia de aminoácidos de un péptido corto es Tyr-Leu-Thr-Ala. ¿Cuáles son las posibles secuencias de base del mRNA y de la cadena de DNA que se transcribe que lo codifica? ¿Cuáles son los anticodones?

PREGUNTA 19.6 Explique las funciones de importancia fundamental de las aminoacil-tRNA sintetasas en la síntesis de proteínas.

19.2. SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

En la Figura 19-3 se presenta una visión general de la síntesis de proteínas. A pesar de su complejidad y de las variaciones entre las especies, la traducción de un mensaje genético en la secuencia primaria de un polipéptido puede dividirse en tres fases: iniciación, elongación y terminación.

1. **Iniciación.** La traducción comienza con la **iniciación**, cuando la subunidad ribosómica pequeña se une a un mRNA. El anticodón de un tRNA específico, que se denomina *tRNA iniciador*, forma a continuación apareamiento de bases con el codón de iniciación AUG. La iniciación finaliza cuando la subunidad ribosómica grande se combina con la subunidad pequeña. Existen dos lugares en el ribosoma completo para las interacciones codón-anticodón: el lugar P (peptidil) (ocupado ahora por el tRNA iniciador) y el lugar A (aminoacil). Tanto en los procariotas como en los eucariotas, los mRNA se leen simultáneamente por numerosos ribosomas. Un mRNA con varios ribosomas unidos a él se denomina **polisoma**. Por ejemplo, en los procariotas que crecen de forma activa, los ribosomas unidos a una molécula de mRNA pueden estar separados unos de otros por unos 80 nucleótidos.

2. **Elongación.** Durante la fase de elongación, el polipéptido se sintetiza realmente de acuerdo con las especificaciones del mensaje genético. El mensaje se lee en la dirección $5' \rightarrow 3'$ y la síntesis del polipéptido se produce desde el N-terminal al C-terminal. La elongación comienza cuando un segundo aminoacil-tRNA se une al ribosoma en el lugar A debido a un apareamiento de bases codón-anticodón. La formación del enlace peptídico la cataliza a continuación la peptidil transferasa. Durante esta reacción (que se denomina *transpeptidación*), el grupo α-amino del aminoácido del lugar A (que actúa como nucleófilo) ataca al grupo carbonilo del aminoácido del lugar P (Fig. 19-4). Debido a la formación del enlace peptídico, ambos aminoácidos se encuentran ahora unidos al tRNA del lugar A. El tRNA del lugar P ahora descargado se libera del ribosoma. (Existen algunas pruebas que señalan que un tRNA descargado se demora brevemente en otro lugar dentro del ribosoma, que se denomina lugar E, o lugar de salida). El paso siguiente de la elongación es la **translocación**, en la que el ribosoma se mueve a lo largo del mRNA. Al desplazarse el mRNA, entra el codón siguiente en el lugar A, y el tRNA que lleva la cadena peptídica creciente se mueve al lugar P. Esta serie de pasos, que se denomina *ciclo de elongación*, se repite hasta que entra un codón de parada en el lugar A.

3. **Terminación**. Durante la **terminación** se libera del ribosoma la cadena polipeptídica. La traducción se termina debido a que un codón de parada no puede unir un aminoacil-tRNA. En su lugar, un factor de liberación se une al lugar A. A continuación, la peptidil transferasa (que actúa como una esterasa) hidroliza el enlace que conecta la cadena polipeptídica ya completada y el tRNA del lugar P. La traducción finaliza cuando el ribosoma libera el mRNA y se disocia en sus subunidades grande y pequeña.

CONCEPTOS CLAVE 19.4

La traducción consta de tres fases: iniciación, elongación y terminación. Tras su síntesis, muchas proteínas se modifican de forma química y se dirigen a sus lugares específicos celulares o extracelulares.

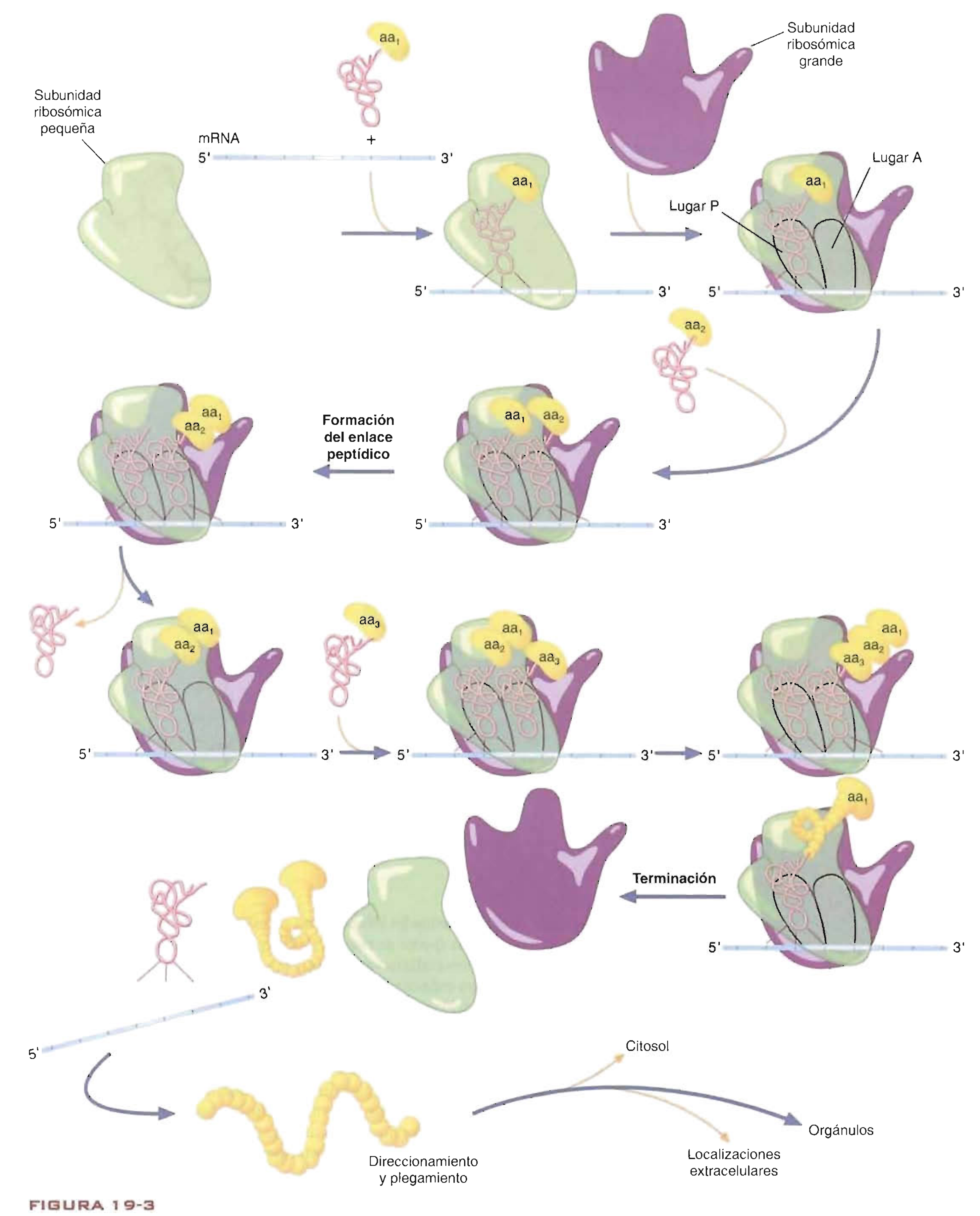


FIGURA 19-3

Síntesis de proteínas.

Con independencia del organismo, la traducción consta de tres fases: iniciación, elongación y terminación. Las reacciones de elongación, que incluyen la formación del enlace peptídico y la translocación, se repiten muchas veces hasta que se alcanza un codón de parada. Las reacciones posteriores a la traducción y los procesos de direccionamiento varían de acuerdo con el tipo celular.

FIGURA 19-4

Formación del enlace peptídico.

Durante el primer ciclo de elongación se forma el enlace peptídico debido al ataque nucleófilo del grupo amino del aminoácido del lugar A sobre el carbono carbonilo del residuo de metionina del lugar P. Al formarse el enlace peptídico ambos aminoácidos están ahora unidos al tRNA del lugar A.

Lugar P

Lugar A

Lugar P

Lugar A

Además de las subunidades ribosómicas, el mRNA y los aminoacil-tRNA, la traducción requiere una fuente de energía (GTP) y una amplia variedad de factores proteicos. Estos factores realizan varias funciones. Algunos poseen funciones catalíticas; otros estabilizan estructuras específicas que se forman durante la traducción. Los factores de traducción se clasifican de acuerdo con la fase del proceso de traducción al que afectan, esto es, iniciación, elongación o terminación. Las diferencias principales entre la traducción procariota y eucariota parecen deberse, en gran parte, a la identidad y el funcionamiento de estos factores proteicos.

Con independencia de las especies, inmediatamente tras la traducción, algunos polipéptidos se pliegan en su forma final sin modificaciones posteriores. Sin embargo, con frecuencia los polipéptidos recién sintetizados se modifican. Estas alteraciones, que se denominan **modificaciones posteriores a la traducción**, pueden considerarse la cuarta fase de la traducción. Estas modificaciones son la eliminación de diversas porciones del polipéptido por proteasas, la modificación de las cadenas laterales de determinados residuos de aminoácido y la inserción de cofactores. Con frecuencia, los polipéptidos se combinan para formar proteínas con varias subunidades. Las modificaciones posteriores a la traducción parecen tener dos fines generales: (1) preparar al polipéptido para su función específica y (2) dirigir al polipéptido

CUADRO 19-2

Antibióticos inhibidores de la síntesis de proteínas

Antibiótico	Acción
Cloranfenicol	Inhibe la peptidil transferasa procariota
Cicloheximida	Inhibe la peptidil transferasa eucariota
Eritromicina	Inhibe la elongación de la cadena peptídica procariota
Estreptomicina	Se une a la subunidad 30S y produce una lectura errónea del mRNA
Tetraciclina	Se une a la subunidad 30S e interfiere en la unión del aminoacil-tRNA

a una localización específica, un proceso que se denomina **direccionamiento**. Éste es un proceso especialmente importante en los eucariotas debido a que las proteínas deben dirigirse a muchos destinos. Además de al citoplasma y a la membrana plasmática (los destinos principales en los procariotas), las proteínas eucariotas pueden enviarse a diversos orgánulos (p. ej., mitocondrias, cloroplastos, lisosomas o peroxisomas).

Aunque existen muchas semejanzas entre la síntesis de proteínas en procariotas y eucariotas, también existen notables diferencias. De hecho, esas diferencias son la base del uso de diversos antibióticos para el tratamiento y la investigación (Cuadro 19-2). Por consiguiente, los detalles de los procesos procariota y eucariota se consideran de forma separada. Cada tratamiento va seguido de una breve descripción de los mecanismos que controlan la traducción.

Síntesis de proteínas en los procariotas

La traducción en los procariotas es relativamente rápida. Por ejemplo, un ribosoma de *E. coli* puede incorporar hasta 15 ó 20 aminoácidos por segundo. (La velocidad en los eucariotas, de alrededor de 50 residuos por minuto, es significativamente más lenta). Recuerde que los ribosomas de los procariotas están formados por una subunidad grande 50S y una subunidad pequeña 30S. La subunidad grande contiene el lugar catalítico para la formación del enlace peptídico. La subunidad pequeña sirve de guía para los factores de traducción que se requieren para regular el proceso. La Figura 19-5 proporciona una reconstrucción tridimensional de un ribosoma funcionante de *E. coli*.

INICIACIÓN Como se ha descrito, la traducción comienza con la formación de un complejo de iniciación (Fig. 19-6). En los procariotas este proceso requiere tres factores de iniciación (IF). *IF-3* e *IF-1* se han unido previamente a la subunidad 30S. IF-3 impide que se una prematuramente a la subunidad 50S. IF-1 se une al lugar A de la subunidad 30S, bloqueándolo de esta forma durante la iniciación. Al unirse un mRNA a la subunidad 30S, es guiado a una localización específica (de forma que el codón de iniciación AUG se sitúe correctamente) mediante una secuencia con abundantes purinas que se denomina **secuencia Shine-Dalgarno**. La secuencia Shine-

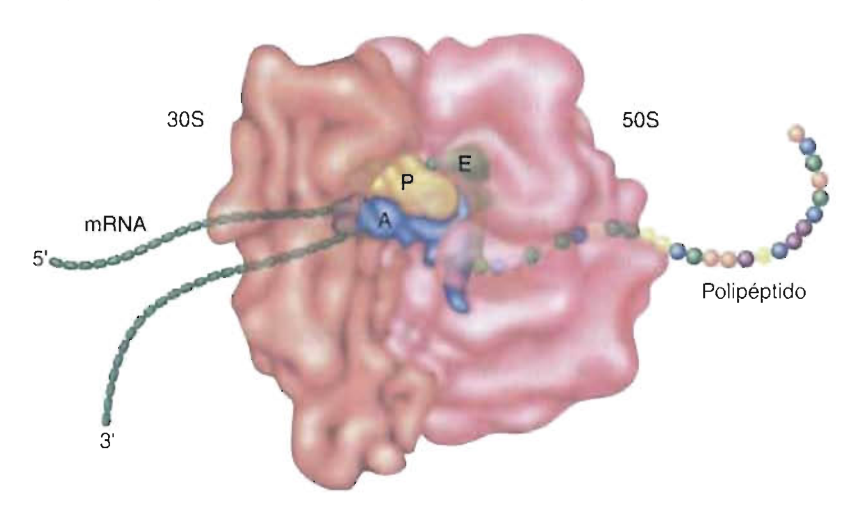


FIGURA 19-5

Ribosoma funcional.

En esta reconstrucción tridimensonal de un ribosoma de *E. coli* durante la síntesis de proteínas, las subunidades grande y pequeña se muestran de color rosa y amarronado, respectivamente. También se señalan las posiciones relativas del mRNA, los tRNA y la cadena polipeptídica en crecimiento. Los tRNA se identifican como A y P para indicar sus posiciones dentro de los lugares acilo y peptidilo donde se produce la formación del enlace peptídico. El tRNA marcado con E se encuentra en la posición de salida; es decir, que una vez que ha descargado su aminoácido durante la síntesis de proteínas se encuentra en el proceso de abandono del ribosoma.

Dalgarno (que se conoce así por sus descubridores John Shine y Lynn Dalgarno) se encuentra a una corta distancia corriente arriba de AUG. Se une a una secuencia complementaria contenida en el componente rRNA 16S de la subunidad 30S. El apareamiento de bases entre la secuencia Shine-Dalgarno y la subunidad 30S proporciona un mecanismo para diferenciar un codón de comienzo de un codón interno de metionina. Cada gen en un mRNA policistrónico posee su propia secuencia Shine-Dalgarno y un codón de iniciación. La traducción de cada gen parece tener lugar independientemente; es decir, la traducción del primer gen en un mensaje policistrónico puede o no ir seguida por la traducción de los genes siguientes.

En el paso posterior de la iniciación, el *IF-2* (una proteína que une GTP) con un GTP unido se une a la subunidad 30S, donde impulsa la unión del tRNA iniciador al codón de iniciación del mRNA. El tRNA iniciador en los procariotas es la formilmetionina-tRNA (fmet-$tRNA^{fmet}$). (Tras cargarse un tRNA iniciador especial con metionina, el residuo de aminoácido se formila en una reacción que requiere N^{10}-THF. La enzima que cataliza esta reacción se une a met-$tRNA^{fmet}$ pero no a met-$tRNA^{met}$).

La fase de iniciación finaliza cuando la molécula de GTP unida al IF-2 se hidroliza a GDP y P_i. La hidrólisis del GTP produce presumiblemente un cambio conformacional que une la subunidad 50S a la subunidad 30S. De forma simultánea, se liberan IF-2 e IF-3.

ELONGACIÓN La elongación consta de tres pasos: (1) posicionamiento de un aminoacil-tRNA en el lugar A, (2) formación del enlace peptídico y (3) translocación. Como se ha señalado antes, estos pasos se denomina, en conjunto, ciclo de elongación.

El proceso de elongación en procariotas comienza cuando un aminoacil-tRNA, que especifica el codón siguiente, se une al lugar A. Antes de que pueda situarse en el lugar A, el aminoacil-tRNA debe unir primero EF-Tu-GTP. El factor de elongación *EF-Tu* es una proteína que une GTP (Recuadro de Interés Especial 19.1) que participa en el posicionamiento de las moléculas de aminoacil-tRNA en el lugar A. Tras colocarse el aminoacil-tRNA que está unido a EF-Tu se hidroliza el GTP a GDP y P_i. La hidrólisis del GTP libera del ribosoma el EF-Tu. Posteriormente, un segundo factor de elongación, que se denomina *EF-Ts*, impulsa la regeneración del EF-Tu desplazando al GDP. El EF-Ts asimismo es desplazado por una molécula entrante de GTP (Fig. 19-7).

Tras la entrega por el FT-Tu del aminoacil-tRNA al lugar A, la peptidil transferasa cataliza la formación del enlace peptídico. (Recuerde que la actividad peptidil transferasa se sabe actualmente que reside en el rRNA 23S componente de la subunidad 50S). La energía que se requiere para impulsar esta reacción la proporciona el enlace éster de energía elevada que liga el aminoácido del lugar P a su tRNA. (Durante el primer ciclo de elongación, este aminoácido es la formilmetionina). Como se ha descrito, el tRNA del lugar P, que ahora está descargado, abandona el ribosoma.

Para que continúe la traducción, el mRNA debe moverse o translocarse, de forma que puede tener lugar una nueva interacción codón-anticodón. La translocación requiere la unión de otra proteína de unión de GTP, que se denomina *EF-G*. La hidrólisis del GTP proporciona la energía que se requiere para el cambio de conformación del ribosoma que aparentemente se produce en el movimiento del peptidil-tRNA (el tRNA que lleva la cadena polipeptídica en crecimiento) desde el lugar A al lugar P. El lugar A desocupado a continuación une un aminoacil-tRNA adecuado al codón del nuevo lugar A. Tras liberarse el EF-G, el ribosoma está preparado para el ciclo de elongación siguiente. La elongación continúa hasta que en el lugar A entra un codón de parada.

TERMINACIÓN La fase de terminación comienza cuando un codón de terminación (UAA, UAG y UGA) entra en el lugar A. En la terminación participan tres **factores de liberación** (RF-1, RF-2 y RF-3). Los codones UAA y UAG son reconocidos por RF-1, mientras que UAA y UGA son reconocidos por RF-2. (No está clara la función de RF-3. Puede impulsar la unión de RF-1 y RF-2). Este proceso de reconocimiento, que implica la hidrólisis de GTP, altera la función del ribosoma. La

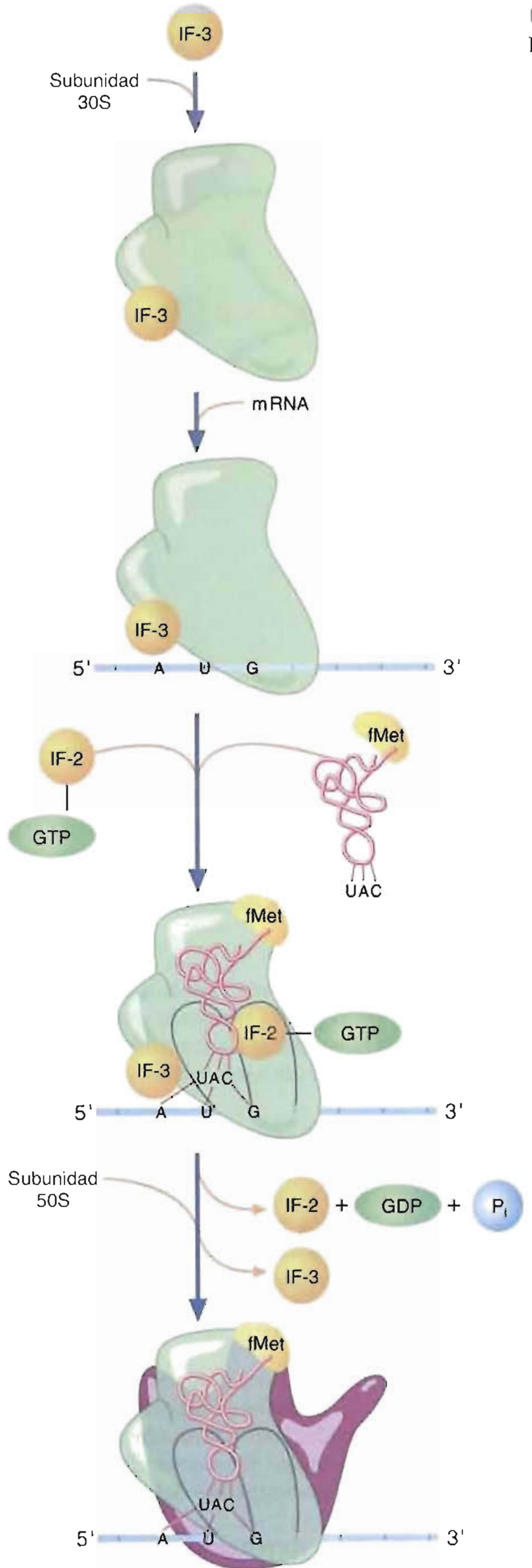


FIGURA 19-6

Formación del complejo de iniciación en los procariotas.

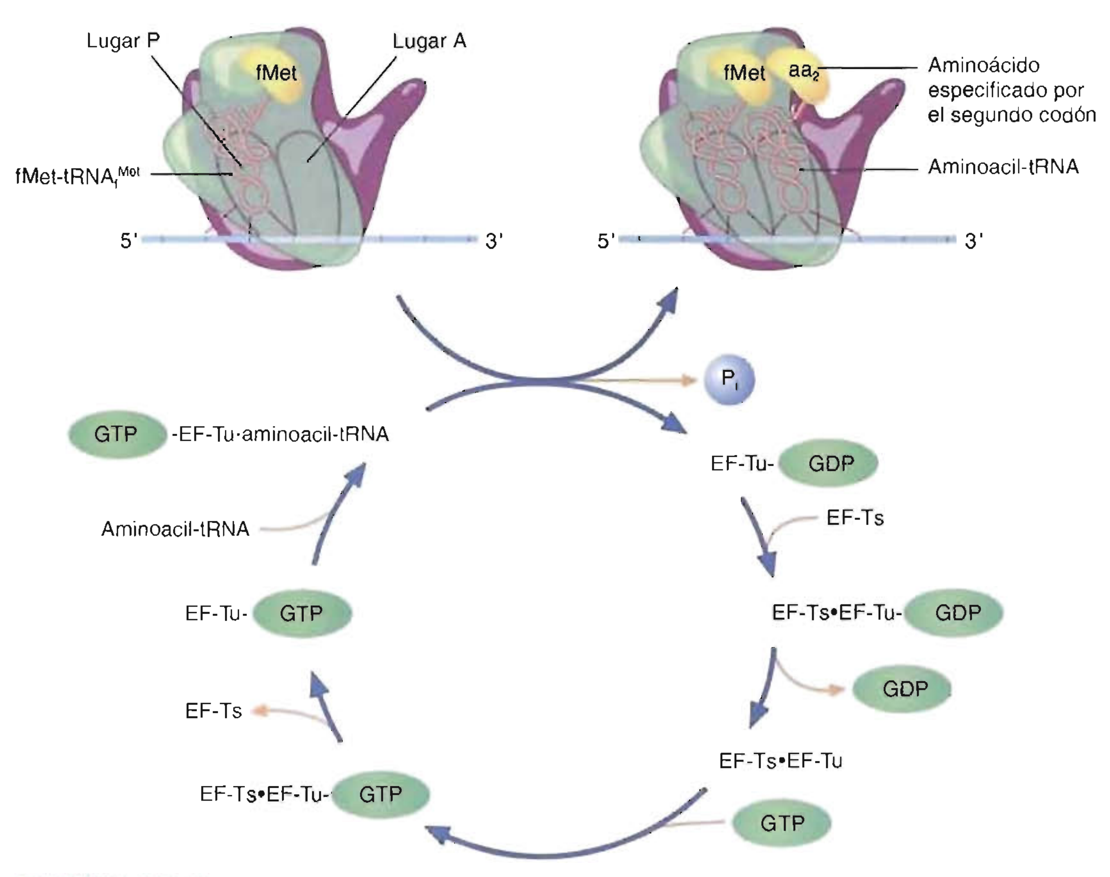


FIGURA 19-7

Ciclo EF-Tu-EF-Ts en *E. coli.*

Antes de que el EF-Tu pueda unir un aminoacil-tRNA, su parte GDP debe sustituirse por GTP. La unión del EF-Ts al EF-Tu (GDP) desplaza al GDP. El EF-Ts es posteriormente también desplazado por un GTP entrante. El EF-Tu (GTP) se asocia a continuación con un aminoacil-tRNA para formar un complejo EF-Tu (GTP) aminoacil-tRNA, el cual descarga el aminoacil-tRNA al lugar A del ribosoma.

peptidil transferasa, que de forma transitoria se transforma en una esterasa, hidroliza el enlace que une la cadena polipeptídica terminada y el tRNA del lugar P. Tras la liberación del polipéptido del ribosoma, se disocia también el mRNA y el tRNA. La fase de terminación acaba cuando el ribosoma se disocia en sus subunidades constituyentes.

MODIFICACIONES POSTERIORES A LA TRADUCCIÓN Al emerger del ribosoma cada polipéptido **naciente** (recién sintetizado), comienza a plegarse en su forma tridimensional final (véase la pág. 692). Como se ha mencionado, la mayoría de estas moléculas también experimentan un conjunto de reacciones de modificación que las prepara para su función. La mayoría de la información relacionada con las modificaciones posteriores a la traducción se ha obtenido de la información en eucariotas. Sin embargo, los polipéptidos procariotas experimentan diversos tipos de alteraciones covalentes.

1. Procesamiento proteolítico. Pueden producirse varias reacciones de rotura, entre ellas, la eliminación del residuo de formilmetionina y las secuencias peptídicas señal. (Los **péptidos señal**, o péptidos líder, son secuencias peptídicas cortas, que se encuentran cerca del amino terminal, que determinan el destino del polipéptido. Por ejemplo, en las bacterias se requiere un péptido señal para insertar un polipéptido en la membrana plasmática.)

2. Conjugación. La mayoría de las proteínas conjugadas de los procariotas son lipoproteínas. La Blc, una lipoproteína del exterior de la membrana de *E. coli* que se

ha descubierto recientemente, es una clase de lipocalina que se produce en condiciones de agresión y que colabora en la biogénesis y reparación de la membrana. (Las *lipocalinas* son un grupo de proteínas hidrófobas de unión de ligandos que previamente sólo se habían observado en los eucariotas.) Aunque en su tiempo eran consideradas poco frecuentes en los procariotas, en la actualidad se han identificado varias glucoproteínas en arqueas y bacterias grampositivas. El ejemplo mejor estudiado es la glucoproteína de la superficie celular de la arquea halófila (amante de la sal) *Halobacterium salinarium*.

3. Metilación. Un grupo de enzimas, que se denominan metiltransferasas proteicas, utilizan la S-adenosilmetionina para metilar determinadas proteínas. Por ejemplo, una clase de metiltransferasa que se encuentra en *E. coli* y bacterias emparentadas metila los residuos de glutamato en los quimiorreceptores unidos a la membrana. La metiltransferasa y la metilesterasa son componentes de un proceso de metilación/desmetilación que participa en un mecanismo de transducción de señal de la quimiotaxia. (Recuerde que se denomina quimiotaxia a la capacidad de una célula para responder a determinados retos ambientales moviéndose hacia moléculas específicas o alejándose de ellas.)

4. Fosforilación. En los últimos años, se ha descubierto que la fosforilación/desfosforilación que catalizan proteína quinasas y fosfatasas está muy extendida entre los procariotas. Muchos de los fines de estas reacciones permanecen sin aclarar. Sin embargo, se han identificado funciones de la fosforilación transitoria en la quimiotaxia y la regulación del metabolismo del nitrógeno.

MECANISMOS DE CONTROL DE LA TRADUCCIÓN La síntesis de proteínas es un proceso excepcionalmente costoso. Gastando cuatro enlaces de energía elevada por enlace peptídico (gasto de dos enlaces durante la carga del tRNA y uno en cada uno de los procesos de unión del tRNA al lugar A y translocación) no es quizá sorprendente que estén implicadas cantidades enormes de energía. Por ejemplo, aproximadamente el 90% de la producción de energía en *E. coli* que se utiliza en la síntesis de macromoléculas puede dedicarse a la fabricación de proteínas. Aunque la velocidad y exactitud de la traducción requieren un aporte elevado de energía, el coste sería aún mayor sin los mecanismos de control metabólico. Estos mecanismos permiten a las células procariotas competir entre ellas por unos recursos nutritivos limitados.



En los procariotas como *E. coli*, la mayor parte del control de la síntesis de proteínas tiene lugar a nivel de la transcripción. (Véase en la Sección 18.3 una consideración de los principios del control de la transcripción en los procariotas). Esta circunstancia es lógica por varias razones. En primer lugar, la transcripción y la traducción están acopladas de forma directa; es decir, la traducción se inicia muy poco después de comenzar la transcripción (Fig. 19-8). En segundo lugar, la vida completa del mRNA procariota es normalmente corta. Con semividas de entre 1 y 3 minutos, los tipos de mRNA que se producen en una célula pueden alterarse rápidamente al variar las condiciones ambientales. La mayoría de las moléculas de mRNA de *E. coli* se degradan por dos exonucleasas, que se denominan RNasa II y polinucleótido fosforilasa.

A pesar de la importancia de los mecanismos de control de la transcripción, también pueden variar las tasas de traducción de los mRNA procariotas. Una gran parte de esta variación se atribuye a diferencias de las secuencias Shine-Dalgarno. Debido a que las secuencias Shine-Dalgarno ayudan a seleccionar el codón de iniciación, las variaciones de secuencia pueden afectar a la tasa de traducción de los mensajes genéticos. Por ejemplo, los productos de los genes del operón lac (β-galactosidasa, galactosa permeasa y galactósido transacetilasa) no se producen en cantidades iguales. La tiogalactósido transacetilasa se produce aproximadamente cinco veces menos que la β-galactosidasa. (Recuerde que permanece sin conocerse la función de la tiogalactósido transacetilasa y que la fermentación de la lactosa normalmente tiene lugar en las células mutantes que no son capaces de producir este producto génico.)

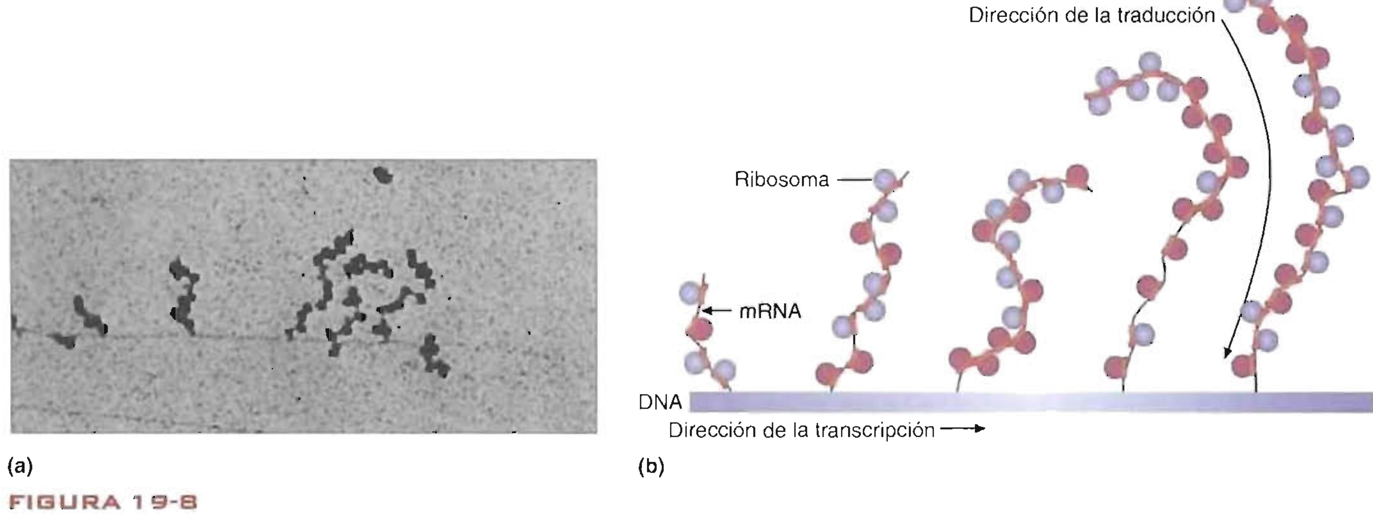


FIGURA 19-8

Transcripción y traducción en *E. coli*.

(a) Una micrografía electrónica de la transcripción y la traducción de *E. coli*. En *E. coli*, así como en otros procariotas, la transcripción y la traducción están acopladas directamente. (b) Diagrama de (a). Obsérvense los polirribosomas.

CONCEPTOS CLAVE 19.5

La síntesis de proteínas en los procariotas es un proceso rápido en el que participan varios factores proteicos. Aunque la mayor parte de la expresión de los genes procariotas parece estar regulada a nivel de la transcripción, se han detectado varios tipos de regulación de la traducción.

Un ejemplo interesante de regulación negativa de la traducción en los procariotas lo proporciona la síntesis de proteínas ribosómicas. Las aproximadamente 55 proteínas de los ribosomas procariotas están codificadas por genes situados en 20 operones. El crecimiento bacteriano eficaz requiere que su síntesis esté regulada de forma coordinada entre los operones y con la síntesis de rRNA. Por ejemplo, en el operón P_{L11}, que contiene los genes de las proteínas ribosómicas L1 y L11, las cantidades excesivas de L1 (es decir, más moléculas de L1 que pueden unir los rRNA 23S disponibles) inhiben la traducción del mRNA de P_{L11} (Fig. 19-9). Aparentemente, L1 puede unirse al rRNA 23S o al mRNA de P_{L11}. En ausencia del rRNA 23S, L1 inhibe la traducción de su propio operón uniéndose al extremo 5′ del mRNA de P_{L11}.

Síntesis de proteínas en los eucariotas

Aunque los primeros trabajos sobre la síntesis de proteínas (p. ej., el descubrimiento de las aminoacil-tRNA sintetasas y de los tRNA) se realizaron utilizando células de mamíferos, en los años 1960 los investigadores de la traducción dirigieron su atención a las bacterias. Este cambio se produjo por diversas razones, entre ellas la relativa facilidad del cultivo de las células bacterianas y la percepción de que la expresión de los genes bacterianos es más sencilla y más accesible que la de los eucariotas más complejos. Sólo en los años 1970, cuando se comprendieron los principios de la traducción procariota, de nuevo el proceso eucariota se convirtió en el foco de atención. No fue sorprendente encontrar que los genomas grandes y complejos de las células eucariotas (especialmente los de los organismos multicelulares) requieren una regulación sofisticada de la traducción (Sección 18.3). Un gran número de factores proteicos colaboran en la traducción. Además, las modificaciones posteriores a la traducción de los polipéptidos eucariotas son significativamente más complejas que las observadas en los procariotas. Considerando la complejidad estructural de los eucariotas es inevitable que los mecanismos de direccionamiento de los polipétidos sean también bastante intrincados.

En esta sección se describen las características que diferencian las tres fases de la traducción en los eucariotas de sus correspondientes en los procariotas. A continuación se consideran varias de las formas más destacadas de modificaciones posteriores a la traducción y los mecanismos de direccionamiento. La sección termina con un tratamiento de los mecanismos de control de la traducción y del plegamiento proteico.

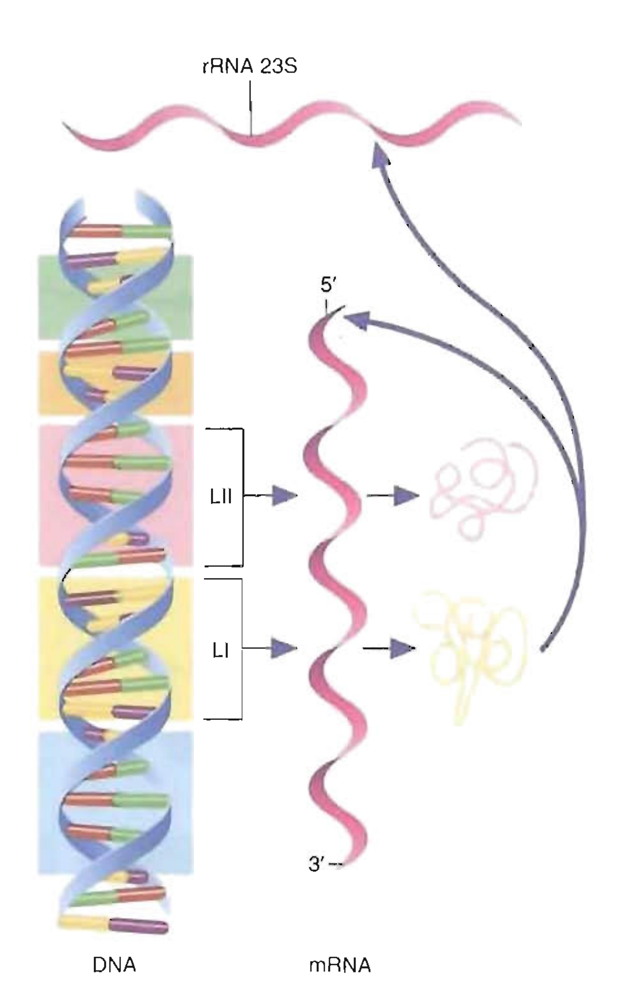


FIGURA 19-9

Un control negativo de la traducción.

El operón P_{L11} de *E. coli* se controla por el nivel de uno de los productos de sus genes. La proteína ribosómica L1 puede unirse al rRNA 23S o a su propio mRNA. Cuando se acumulan cantidades excesivas de L1, ésta se une el extremo 5′ de su propio mRNA, inhibiendo de esta manera la traducción del operón.

INICIACIÓN La mayoría de las principales diferencias entre las versiones procariota y eucariota de la síntesis de proteínas se producen durante la fase de iniciación. Entre las razones de la mayor complejidad de la iniciación eucariota se encuentran:

1. **Estructura secundaria del mRNA**. Recuerde que el mRNA eucariota se procesa por la adición de una caperuza de metilguanosina y una cola de poli A y por la eliminación de los intrones. Además, los mRNA eucariotas no se asocian con un ribosoma hasta que abandonan el núcleo y, como consecuencia, quedan libres para interaccionar con diversas proteínas celulares. (Un mRNA que forma complejos con estas proteínas se denomina partícula ribonucleoproteica.)
2. **Exploración del mRNA**. A diferencia de los mRNA procariotas, las moléculas eucariotas carecen de secuencias Shine-Dalgarno, que permiten la identificación de la secuencia de iniciación AUG. En su lugar, los ribosomas eucariotas «exploran» cada mRNA. Esta exploración es un proceso complejo (y mal conocido) en el que los ribosomas se unen al extremo 5′ de la molécula con la caperuza y se desplazan en la dirección 5′ → 3′ buscando un lugar de comienzo de la traducción.

Los eucariotas utilizan un espectro más complejo de factores de iniciación que los procariotas. Existen al menos nueve factores de iniciación eucariotas (eIF), varios de los cuales poseen numerosas subunidades. Las funciones de la mayoría de estos factores se están investigando.

La iniciación eucariota (Fig. 19-10) comienza cuando la subunidad ribosómica pequeña 40S se une a un complejo formado por el *eIF-2* (una proteína que une GTP), el GTP y una especie iniciadora de metionil-$tRNA^{met}$ (met-$tRNA_i$). (El eIF-2-GTP, que intermedia la unión del tRNA iniciador con la subunidad 40S, se regenera a partir del eIF-2-GDP inactivo por el *eIF-2B*, una proteína de liberación de nucleótidos de guanina. Tras liberarse el GDP del eIF-2, se produce la unión del GTP.) Se evita que la subunidad pequeña (40S) se una a la subunidad grande (60S) durante

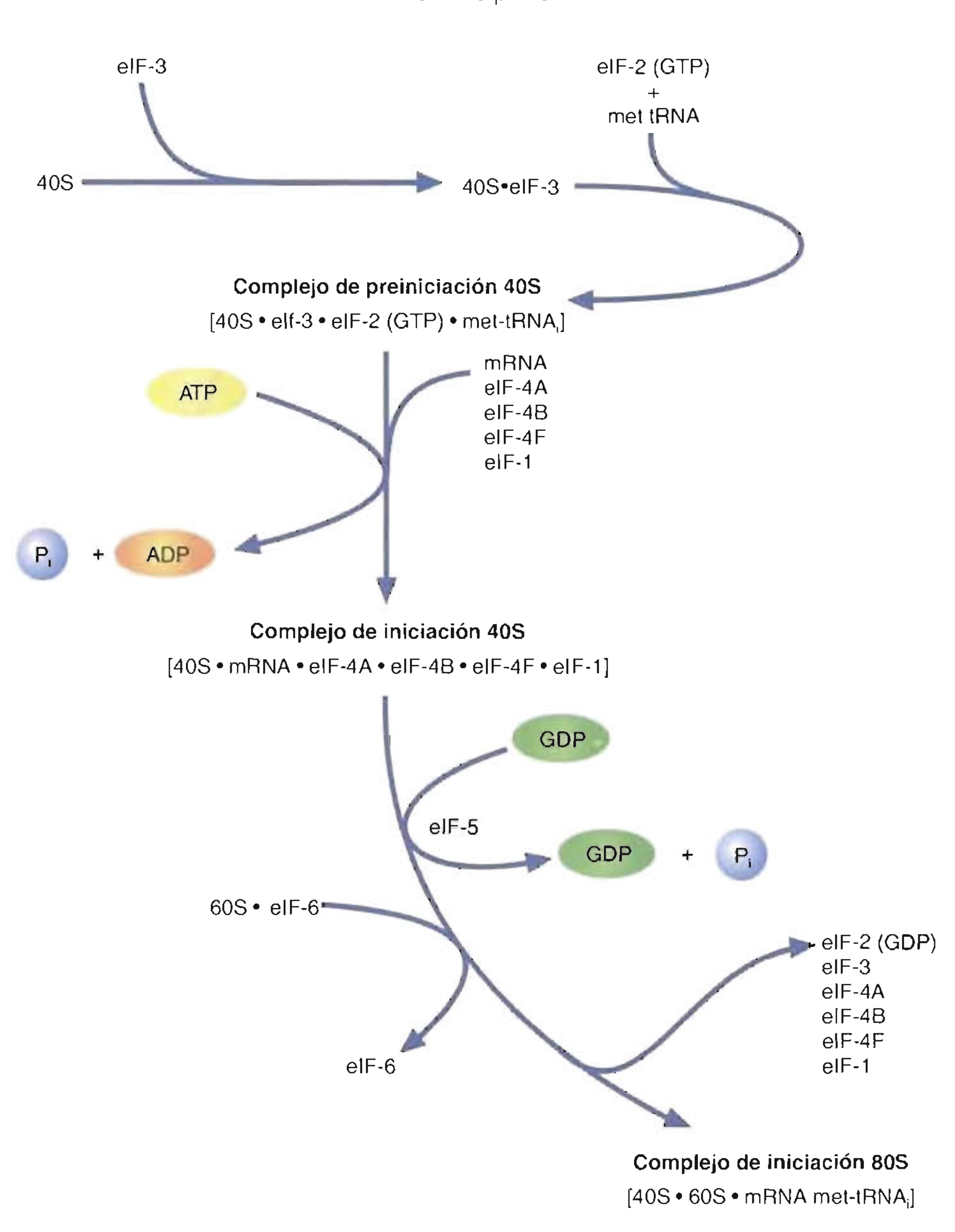


FIGURA 19-10
Formación del complejo de iniciación en los eucariotas.

esta fase de iniciación debido a su asociación con *eIF-3*, una proteína con varias subunidades. (El ensamblaje de subunidades se impide también por la asociación del eIF-6 con la subunidad 60S.) El complejo formado por la subunidad pequeña, el eIF-2-GTP, el eIF-3 y el metionil-tRNA^{met} se denomina *complejo de preiniciación 40S*. A continuación, el mRNA se une al complejo de preiniciación 40S para formar el *complejo de iniciación 40S*. Se trata de un proceso que requiere ATP y que necesita varios factores de iniciación (p. ej., eIF-4A, eIF-4B, eIF-1, eIF-4F). El *EIF-4F* se une a la estructura de la caperuza en el extremo 5′ del mRNA, mientras que la unión del *eIF-4A* (una ATPasa) y del *eIF-4B* (una helicasa) se cree que reducen la estructura secundaria de la molécula de mRNA unida. La identificación de los factores de iniciación eucariotas ha sido confusa. Por ejemplo, algunos factores se ha visto que son subunidades de factores más grandes. El *eIF-4E*, que también se denomina proteína de unión a la caperuza o *CBP I*, es una de las diversas subunidades de eIF-4F. El EIF-4F suele denominarse *CBP II*.

Una vez que se ha formado el complejo de iniciación 40S, éste explora el mRNA en busca de un codón de iniciación adecuado, que normalmente es un AUG cerca del extremo 5′. Posteriormente, el complejo 40S se une a la subunidad 60S (disociada ahora del eIF-6) para formar un *complejo de iniciación 80S*. La formación del complejo 80S comporta la hidrólisis del GTP asociado con el eIF-2, un proceso que

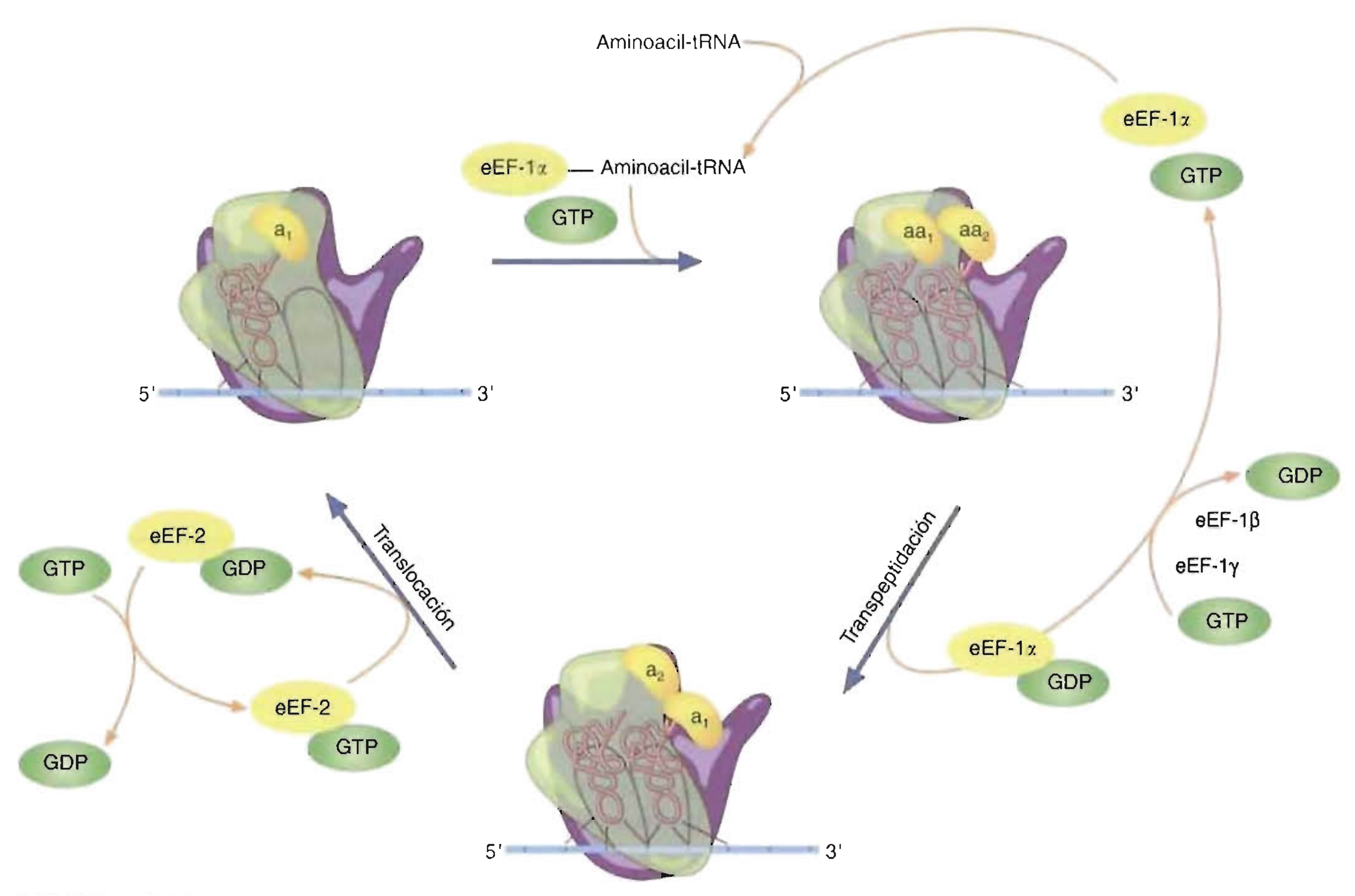


FIGURA 19-11

Ciclo de elongación en la traducción de los eucariotas.

La elongación comprende tres fases: (1) unión de un aminoacil-tRNA al lugar A, (2) transpeptidación, y (3) translocación.

requiere el *eIF-5*. La fase de iniciación termina cuando se liberan del complejo de iniciación los factores eIF-2, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4F y eIF-1.

ELONGACIÓN La Figura 19-11 presenta el ciclo de elongación eucariota tal y como se conoce en la actualidad. Durante esta fase de la traducción se requieren varios factores de elongación (eEF). El *eIF-1α* es un polipéptido de 50 kD que intermedia la unión de los aminoacil-tRNA al lugar A. Tras formarse un complejo entre el eEF-1α, el GTP y el aminoacil-tRNA entrante, se inician las interacciones codón-anticodón. Si se produce un apareamiento de bases correcto, el eEF-1α hidroliza su GTP unido y a continuación sale del ribosoma, dejando atrás su aminoacil-tRNA. Si no se produce un apareamiento de bases correcto, el complejo abandona el lugar A, evitando de esta forma que se incorpore un residuo de aminoácido incorrecto. Este proceso se ha denominado **lectura de pruebas cinética**. En varios hongos (p. ej., levaduras), otro factor de elongación, que se denomina *eEF-3*, también se requiere en combinación con el eEF-1α para la unión del aminoacil-tRNA al lugar A.

Durante el siguiente paso de elongación (la formación del enlace peptídico) la actividad peptidil transferasa de la subunidad ribosómica grande cataliza el ataque nucleófilo del grupo α-amino del lugar A sobre el carbono carboxílico del residuo de aminoácido del lugar P. Aparentemente el eEF-1α se disocia del ribosoma inmediatamente antes de la transpeptidación. El eEF-1β y el eEF-1γ intermedian la regeneración del eEF-1α impulsando un intercambio de GDP por GTP. (Recuerde que en las bacterias como *E. coli* se produce un proceso semejante con participación de EF-Tu y EF-Ts.)

La translocación en los eucariotas requiere un polipéptido de 100 kD que se denomina *eEF-2*, que también es una proteína que une GTP. El eEF-2-GTP se une al ribosoma en un lugar aún sin determinar durante la translocación. A continuación se hidroliza el GTP a GDP y se libera el eEF-2-GDP. Como se ha indicado, la hidrólisis del GTP proporciona la energía necesaria para mover físicamente el ribosoma a lo largo del mRNA. Al final de la translocación se expone un nuevo codón en el lugar A.

TERMINACIÓN En las células eucariotas dos factores de liberación, el *eRF-1* y el *eRF-3* (una proteína que une GTP) intermedian el proceso de terminación. Cuando el GTP se une al eRF-3, se activa su actividad GTPasa. El eRF-1 y el eRF-3-GTP forman un complejo que se une en el lugar A cuando entran UAG, UGA o UAA. Entonces la hidrólisis del GTP impulsa la disociación del ribosoma de los factores de liberación. Este paso va seguido por la liberación del mRNA y la separación del ribosoma funcional en sus subunidades. Como se ha descrito, la liberación del polipéptido recién sintetizado está catalizada por la peptidil transferasa.

PREGUNTA 19.7

Explique los siguientes términos con referencia a la traducción:
a. translocación
b. terminación
c. elongación
d. polisoma
e. factores de liberación

PREGUNTA 19.8

Nombre y explique las funciones de los factores proteicos que participan en la fase de iniciación de la síntesis de proteínas en los procariotas.

PREGUNTA 19.9

¿Qué tipos de enlaces químicos participan en las siguientes moléculas?
a. aminoácidos en los polipéptidos
b. nucleótidos en una cadena polinucleotídica
c. codón-anticodón en la traducción

PREGUNTA 19.10

Explique las funciones de las subunidades grande y pequeña de los ribosomas.

PREGUNTA 19.11

El eEF-2 posee una modificación singular de un residuo específico de histidina que se denomina diftamida. Las células eucariotas mutantes que no pueden transformar esta histidina en diftamida no parecen afectarse de forma adversa. Sin embargo, la ADP-ribosilación del residuo de diftamida del eEF-2 por las toxinas producidas por *Corynebacterium diphtheriae* y *Pseudomonas aeruginosa* hace que el factor quede inoperante.

Las células mueren debido a que no pueden sintetizar proteínas. Se desconoce el mecanismo por el que la ADP-ribosilación afecta la función de eEF-2. ¿Puede sugerir algunas posibilidades?

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 19.1. EF-Tu: Una proteína motora

El EF-Tu (Fig. 19A), el factor proteico que coloca a los complejos aminoacil-tRNA en el lugar A de los ribosomas procariotas, es un ejemplo muy estudiado de una proteína motora que une GTP. Recuerde que las *proteínas motoras* (Sección 2.1) utilizan la hidrólisis de los nucleótidos para impulsar cambios de sus propias conformaciones que suelen utilizarse para promover variaciones conformacionales ordenadas en las moléculas o subunidades adyacentes. En otras palabras, las proteínas motoras, que suelen llamarse NTPasas, actúan como transductores mecanoquímicos. Estos cambios conformacionales que produce la hidrólisis de los NTP, que tienen lugar principalmente en unidades localizadas que se denominan conmutadores, alteran la afinidad de la NTPasa por otras moléculas.

El EF-Tu posee tres dominios. El dominio 1 contiene un lugar de unión de GTP y dos regiones conmutadoras. El dominio 2 está conectado con el dominio 1 a través de un segmento peptídico flexible. En su forma activa con GTP unido (EF-Tu-GTP), el factor de elongación posee un lugar de unión para un aa-tRNA. Tras la unión del aa-tRNA, la estructura completa se denomina complejo terciario. Los tres dominios del EF-Tu participan en la unión del tRNA. Por ejemplo, el tallo TψC de las moléculas de tRNA (Fig. 17-22) interacciona con varios residuos de aminoácido del dominio 3. La unión del aa-tRNA proyecta el anticodón fuera del complejo ternario de forma que queda libre para interaccionar con los codones del mRNA.

Durante la síntesis de proteínas, la interacción del EF-Tu-GDP (la forma inactiva) con el EF-Ts libera el GDP. La consiguiente unión de GTP en el lugar de unión del nucleótido del dominio 1 modifica la conformación de las dos regiones conmutadoras. Estas variaciones acercan los dominios 1 y 2, formando una hendidura de unión. Una vez unido un aa-tRNA en la hendidura, el complejo ternario entra en el ribosoma donde el anticodón del aa-tRNA se une reversiblemente a un codón en el lugar A. Cuando un complejo ternario contiene un aa-tRNA análogo, un cambio conformacional del ribosoma desencadena un cambio conformacional del lugar de unión del nucleótido del EF-Tu. La consiguiente hidrólisis del GTP hace que los dominios 1 y 2 se desplacen, permitiendo así la liberación del aa-tRNA. Aunque no está claro aún el orden preciso de los cambios conformaciones del dominio 1, se conocen los siguientes detalles. La región conmutadora 1, que se cree que contiene una horquilla β en el EF-Tu-GDP inactivo, se convierte en una hélice (la «hélice conmutadora») en el EF-Tu-GTP. En la región conmutadora 2 (cerca del lugar de unión del GTP) el fosfato γ del GTP hace que un residuo conservado de glicina salte 180°, desplazándose 4.6 Å. El extraordinario movimiento de este residuo fuerza el desplazamiento de la hélice conmutadora cuatro residuos a lo largo de la cadena polipeptídica, un proceso que modifica en 45° el eje de rotación de la hélice y da lugar al desplazamiento de 46 Å de la porción más distal del dominio. Se ha descrito esta característica de la función del EF-Tu como un mecanismo de tiempo. El reloj se activa cuando el complejo ternario se une al ribosoma. La velocidad relativamente lenta de la hidrólisis del GTP proporciona el tiempo suficiente para que se disocien los apareamientos incorrectos codón-anticodón. Por el contrario, la unión de un aa-tRNA análogo es tan fuerte que hay tiempo suficiente para que se produzca la hidrólisis del GTP. Así, el funcionamiento del complejo ternario proporciona otro mecanismo para la lectura de pruebas durante la traducción, además del descrito para las aa-tRNA sintetasas.

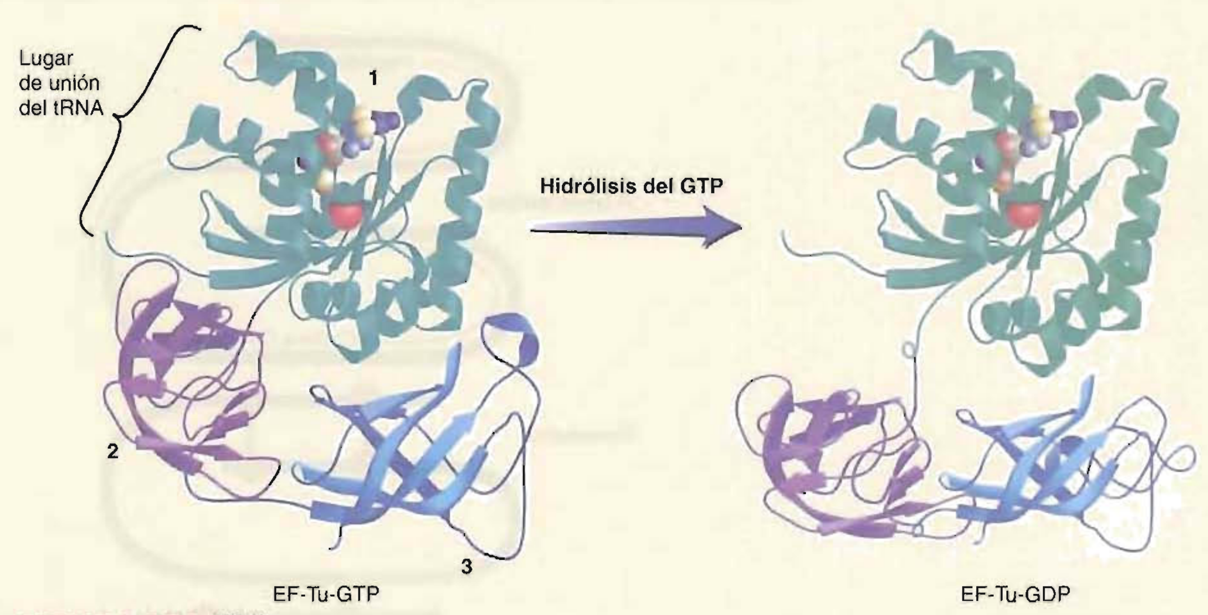


FIGURA 19A EF-Tu.
El EF-Tu es una GTPasa que sitúa los complejos aminoacil-tRNA dentro del lugar A de los ribosomas procariotas durante la síntesis de proteínas. La unión de una molécula de GTP (rojo) por el EF-Tu cambia la conformación del dominio (no se muestra), lo que da lugar a la creación de una hendidura de unión para un complejo aminoacil-tRNA. La hidrólisis del GTP hace que se separen los dominios 1 y 2 de forma que se libera el aminoacil-tRNA (no se muestra). (Se indica un ion magnesio con una esfera amarilla.)

MODIFICACIONES POSTERIORES A LA TRADUCCIÓN EN LOS EUCARIOTAS La mayoría de los polipéptidos nacientes experimentan uno o varios tipos de modificaciones covalentes. Estas alteraciones, que pueden tener lugar durante la síntesis del polipéptido o posteriormente, consisten en reacciones que modifican las cadenas laterales de residuos de aminoácido específicos o rompen enlaces específicos. En general, las modificaciones posteriores a la traducción preparan a cada molécula para su función o para el plegamiento en su conformación nativa (biológicamente activa). Se han identificado más de 200 clases diferentes de reacciones de procesamiento posteriores a la traducción. La mayoría de ellas pertenecen a alguna de las clases siguientes:

1. **Rotura proteolítica**. El procesamiento proteolítico de las proteínas es un mecanismo de regulación habitual en las células eucariotas. Entre los ejemplos típicos de rotura proteolítica (la hidrólisis de enlaces peptídicos específicos en determinadas proteínas mediante proteasas) se encuentran la eliminación de la metionina N-terminal y los péptidos señal (véase la pág. 674). La rotura proteolítica también se utiliza para convertir a las proteínas precursoras inactivas, que se denominan **proproteínas**, en sus formas activas. Por ejemplo, recuerde que determinadas enzimas, que se denominan proenzimas o zimógenos, se transforman en sus formas activas mediante la rotura de enlaces peptídicos específicos. El procesamiento proteolítico de la insulina (Fig. 19-12) proporciona un ejemplo muy estudiado de la conversión de una hormona polipeptídica en su forma activa. El precursor inactivo de la insulina que se produce por eliminación del péptido señal se denomina proinsulina. Las proteínas precursoras inactivas con péptidos señal que deben eliminarse se denominan **preproproteínas**. El precursor de la insulina que contiene un péptido señal se denomina pre-proinsulina.

2. **Glucosilación**. Aunque una amplia variedad de proteínas eucariotas están glucosiladas, no siempre es evidente el objetivo funcional de los hidratos de carbono (Sección 7.4). En general, las proteínas que se segregan contienen especies de oligo-

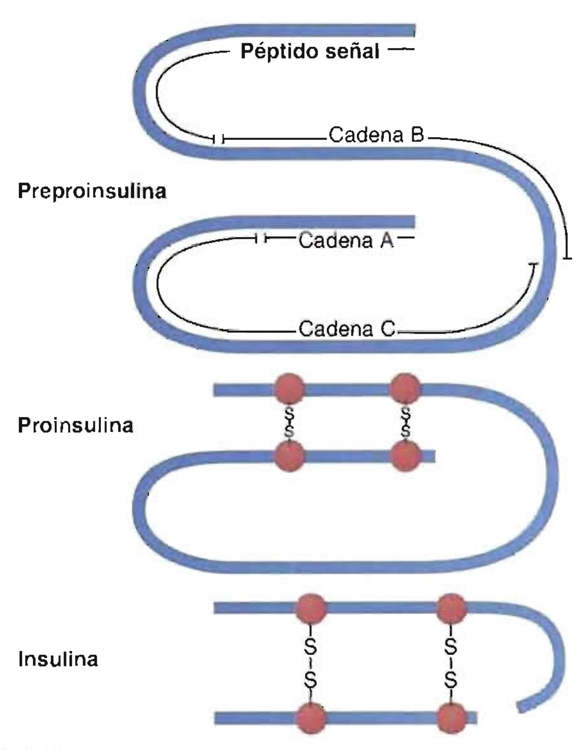


FIGURA 19-12

Procesamiento proteolítico de la insulina.

Tras la eliminación del peptido señal, se elimina mediante una enzima proteolítica específica un segmento peptídico que se denomina cadena C. Se forman también durante el procesamiento posterior a la traducción de la insulina dos enlaces disulfuro.

sacáridos complejas, mientras que las proteínas de la membrana del RE poseen especies con gran cantidad de manosa. En la Figura 19-13 se presenta la síntesis del oligosacárido central ligado por N (habitual en todas las formas ligadas por N). El oligosacárido central se ensambla en asociación con dolicol fosforilado. (El dolicol es un poliisoprenoide que se encuentra dentro de las membranas de todas las células. El dolicol fosforilado se encuentra predominantemente en la membrana del RE.)

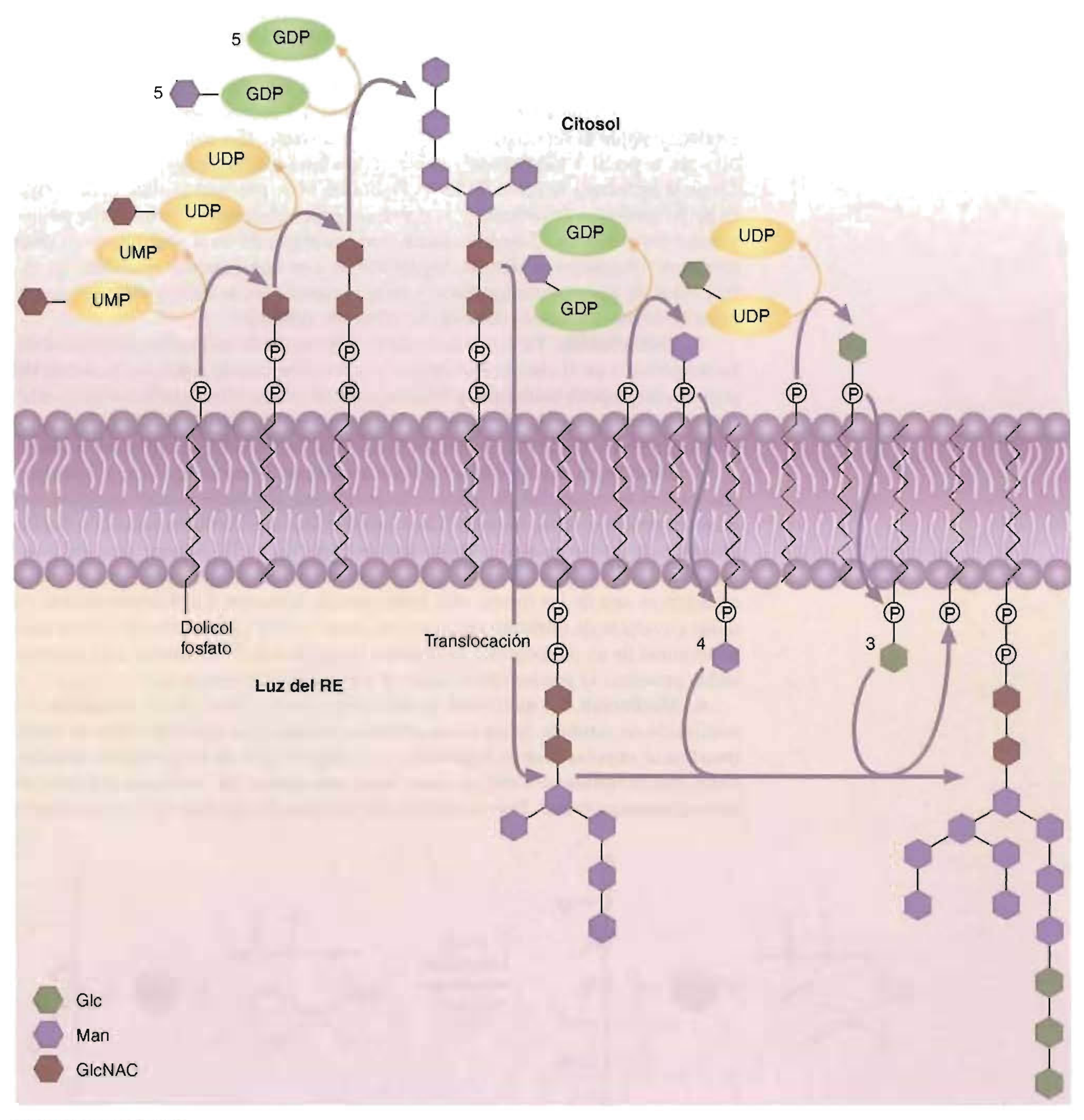


FIGURA 19-13

Síntesis de un oligosacárido ligado por dolicol.
En el primer paso, se transfiere GlcNAc-1-P desde UDP-ClcNAc al dolicol fosfato (Dol-P). La siguiente GlcNAc y los cinco residuos posteriores de manosa se transfieren con posterioridad desde formas activadas por nucleótidos. Tras saltar la estructura completa al lado luminal de la membrana, se transfieren cada uno de los azúcares que quedan (cuatro manosas y tres glucosas) primero al Dol-P y luego al oligosacárido creciente. Posteriormente, tiene lugar la glucosilación en N de la proteína en el RE en una reacción de un paso catalizada por una enzima unida a la membrana que se denomina glucosil transferasa.

3. Hidroxilación. Se requiere la hidroxilación de los aminoácidos prolina y lisina para la integridad estructural de las proteínas del tejido conjuntivo colágeno (Sección 5.3) y elastina. Además, la 4-hidroxiprolina se encuentra también en la acetilcolinesterasa (la enzima que degrada el neurotransmisor acetilcolina) y el complemento (una serie compleja de proteínas séricas que participan en la respuesta inmunitaria). Tres oxigenasas de función mixta (prolil-4-hidroxilasa, prolil-3-hidroxilasa y lisil hidroxilasa) localizadas en el REL son responsables de la hidroxilación de determinados residuos de prolina y lisina. Los requerimientos del sustrato son muy específicos. Por ejemplo, la prolil-4-hidroxilasa sólo hidroxila los residuos de prolina en la posición Y de los péptidos que contienen secuencias Gly-X-Y, mientras que la prolil-3-hidroxilasa requiere secuencias Gly-Pro-4-Hyp (Hyp es hidroxiprolina; X e Y representan otros aminoácidos). La hidroxilación de lisina sólo se produce cuando la secuencia Gly-X-Lys está presente. (La hidroxilación polipeptídica por la prolil-3-hidroxilasa y la lisil hidroxilasa sólo tiene lugar antes de que se forme la estructura helicoidal.) En la Figura 19-14 se presenta la síntesis de 4-Hyp. El ácido ascórbico (vitamina C) es necesario para hidroxilar los residuos de prolina y lisina del colágeno. Cuando es inadecuada su ingestión en el alimento se produce escorbuto (Recuadro de Interés Especial 7.1). Los síntomas del escorbuto (p. ej., fragilidad de los vasos sanguíneos y mala cicatrización de las heridas) son consecuencia de una estructura débil de las fibras de colágeno.

4. Fosforilación. Ya se han dado algunos ejemplos de las funciones de la fosforilación proteica en el control metabólico y la transducción de señal. La fosforilación proteica desempeña también una función esencial (e interrelacionada) en las interacciones proteína-proteína. Por ejemplo, la autofosforilación de los residuos de tirosina en los receptores del PDGF precede a la unión de las proteínas citoplásmicas diana.

5. Modificaciones lipófilas. La unión covalente de partes lipídicas a las proteínas mejora la capacidad de unión a la membrana y/o determinadas interacciones proteína-proteína. Entre las modificaciones lipófilas más comunes están la acilación (la unión de ácidos grasos) y la prenilación (Sección 11.1). Aunque el ácido graso miristato (14:0) es relativamente poco frecuente en las células eucariotas, la miristoilación es una de las formas más habituales de acilación. La N-miristoilación (la unión covalente de miristato mediante un enlace amida a un residuo de glicina amino terminal de un polipéptido) incrementa la afinidad de la subunidad α de determinadas proteínas G por las subunidades β y γ unidas a la membrana.

6. Metilación. La metilación proteica tiene varios fines en los eucariotas. La metilación de residuos de aspartato alterados mediante un tipo específico de metiltransferasa impulsa bien la reparación o la degradación de las proteínas dañadas. Otras metiltransferasas catalizan reacciones que alteran las funciones celulares de determinadas proteínas. Por ejemplo, se han encontrado residuos de lisina metilados

Residuo de prolina + O_2 + α-Cetoglutarato → (Prolil hidroxilasa; Ascorbato, Fe^{2+}) → Residuo de 4-hidroxiprolina + CO_2 + Succinato

FIGURA 19-14
Hidroxilación de la prolina.
El ácido ascórbico y el hierro ferroso son cofactores de la prolil-4-hidroxilasa, la enzima que cataliza la hidroxilación de la posición C-4 de determinados residuos de prolina en los polipéptidos nacientes. El ácido ascórbico, actuando como un agente reductor, impide la oxidación del átomo de hierro cofactor de la enzima.

en proteínas tan diferentes como la ribulosa-2,3-bisfosfato carboxilasa, la calmodulina, las histonas, determinadas proteínas ribosomicas y el citocromo c. Otros residuos de aminoácido que pueden metilarse son la histidina (p. ej., histonas, rodopsina y eEF-2) y la arginina (p. ej., proteínas de choque térmico y proteínas ribosómicas).

7. Formación de enlaces disulfuro. Los enlaces disulfuro generalmente sólo se encuentran en proteínas que se segregan (p. ej., insulina) y determinadas proteínas de membrana. (Recuerde que los «puentes disulfuro» están favorecidos en el ambiente oxidante del exterior de la célula y confieren una estabilidad estructural considerable a las moléculas que los contienen.) Como se ha descrito (Sección 5.3), las proteínas citoplásmicas generalmente no poseen enlaces disulfuro debido a la presencia de varios agentes reductores en el citoplasma (p. ej., glutatión y tiorredoxina). Debido a que el RE tiene un ambiente no reductor, los enlaces disulfuro se forman espontáneamente en el REL al emerger el polipéptido naciente al lumen. Aunque algunas proteínas tienen puentes disulfuro que se forman secuencialmente al ir entrando el polipéptido en el lumen (la primera cisteína se aparea con la segunda, el tercer residuo se aparea con el cuarto, etc.), esto no es cierto para muchas otras moléculas. La formación adecuada de los enlaces disulfuro de estas últimas proteínas se supone que está facilitada por un **intercambio disulfuro**. Durante este proceso, los enlaces disulfuro se desplazan rápidamente de una posición a otra hasta que se consigue la estructura más estable. Este proceso se cree que está catalizado por una actividad enzimática del RE que se denomina proteína disulfuro isomerasa.

8. Corte y empalme proteico. El **corte y empalme proteico** (Fig. 19-15) es un mecanismo posterior a la traducción en el que se corta de forma precisa una secuencia peptídica interpuesta de un polipéptido naciente. En esta reacción intramolecular autocatalizada, se forma un enlace peptídico entre los residuos de aminoácido flan-

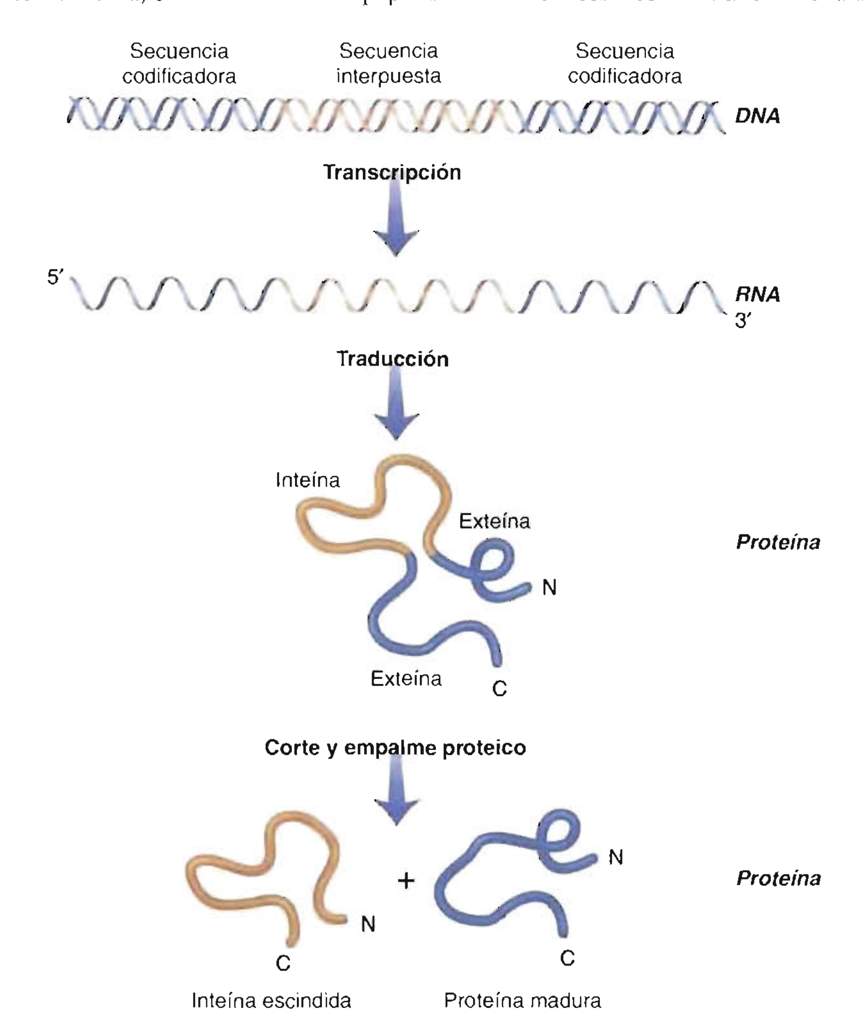


FIGURA 19-15

Corte y empalme proteico.

El corte y empalme proteico es un proceso posterior a la traducción en el que una inteína, una secuencia peptídica codificada por una secuencia interpuesta del gen, se escinde de forma precisa del polipéptido naciente. En esta reacción autocatalítica, se forma un enlace peptídico que liga los residuos de los aminoácidos N-terminal y C-terminal de las secuencias peptídicas flanqueantes, que se denominan exteínas, para formar la proteína madura.

queantes amino terminal y carboxilo terminal. El segmento peptídico escindido se denomina **inteína**; los segmentos flanqueantes que se cortan y empalmen juntos para formar la proteína madura se denominan **exteínas**. El corte y empalme proteico tiene lugar sin la ayuda de cofactores, fuentes energéticas metabólicas o enzimas auxiliares. Identificado por primera vez en 1990 durante las investigaciones de la subunidad catalítica de una ATPasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el corte y empalme proteico se ha observado en determinados organismos unicelulares en todos los dominios de los seres vivos: arqueas, bacterias y eucariotas. Permanecen sin resolver los mecanismos de la reacción de corte y empalme y el significado global del corte y empalme proteico en los procesos celulares.

DIRECCIONAMIENTO A pesar de las enormes complejidades de la estructura y función de la célula eucariota, cada polipéptido recién sintetizado se dirige normalmente a su destino adecuado. Considerando que la traducción tiene lugar en el citoplasma (excepto para determinadas moléculas que se produce dentro de las mitocondrias y los plástidos) y que una extensa variedad de polipéptidos deben dirigirse a sus localizaciones adecuadas, no es sorprendente que los mecanismos por los que se direccionan las proteínas celulares sean complejos. Aunque este proceso no se comprende aún en su totalidad, parecen existir dos mecanismos principales por los que los polipéptidos se dirigen hacia sus localizaciones correctas: localización del transcrito y péptidos señal. A continuación se considera brevemente cada uno de ellos.

Se acepta generalmente que las células suelen tener distribuciones simétricas dentro del citoplasma. Por ejemplo, los huevos maduros de *Drosophila* contienen un gradiente de bicoide, una proteína que desempeña una función esencial en la regulación de los genes durante el desarrollo. Se requiere una concentración elevada de bicoide en la porción anterior del huevo para el desarrollo normal de las partes anteriores del cuerpo (los segmentos de la cabeza), mientras que la concentración baja de bicoide en la porción posterior del citoplasma del huevo promueve el desarrollo de las partes posteriores del cuerpo. (Si se elimina el citoplasma posterior de un huevo y se sustituye por citoplasma anterior en un segundo huevo, aparecen dos conjuntos de partes posteriores del cuerpo en la larva que se forma a partir del huevo receptor.) Se piensa que los gradientes de proteína citoplásmica se crean por **localización del transcrito**, es decir, la unión de mRNA específicos a receptores en determinadas localizaciones citoplásmicas. Se sabe que el mRNA de la bicoide se transporta desde las células nodriza celulares al interior del ovocito (una célula huevo inmadura). Una vez en el ovocito, el mRNA de la bicoide se une por su extremo 3′ a determinados componentes del citoesqueleto anterior. Tras fertilizarse el huevo maduro, la traducción del mRNA de la bicoide, acoplada con la difusión de la proteína, da lugar al gradiente de concentración.

Los polipéptidos destinados a la secreción o a su utilización en la membrana plasmática o cualquiera de los orgánulos membranosos deben direccionarse específicamente a sus localizaciones adecuadas. Varias clases de estas proteínas poseen señales clasificadoras que se denominan péptidos señal. Cada secuencia de péptido señal ayuda a insertar el polipéptido que la contiene en una membrana adecuada. Los péptidos señal generalmente constan de una región cargada positivamente seguida de una región hidrófoba y una región más polar. Aunque muchos péptidos señal se encuentran en el amino terminal, también pueden encontrarse en cualquier lugar del polipéptido.

La **hipótesis de la señal** fue propuesta en 1975 por Gunter Blobel para explicar la translocación de los polipéptidos a través de la membrana del RER. Las investigaciones posteriores han proporcionado una información significativa con relación a la inserción de los polipéptidos a través de la membrana del RER. Por esta razón, la exposición se centra principalmente en este orgánulo. A continuación se da una breve descripción de la captación de los polipéptidos por otros orgánulos.

Una vez que se han incorporado unos 70 aminoácidos en el polipéptido que emerge de un ribosoma, se une al ribosoma una **partícula de reconocimiento de la señal** (PRS) (un complejo grande que consta de seis proteínas y una molécula pequeña de RNA) (Fig. 19-16). Como consecuencia de esta unión, la traducción se

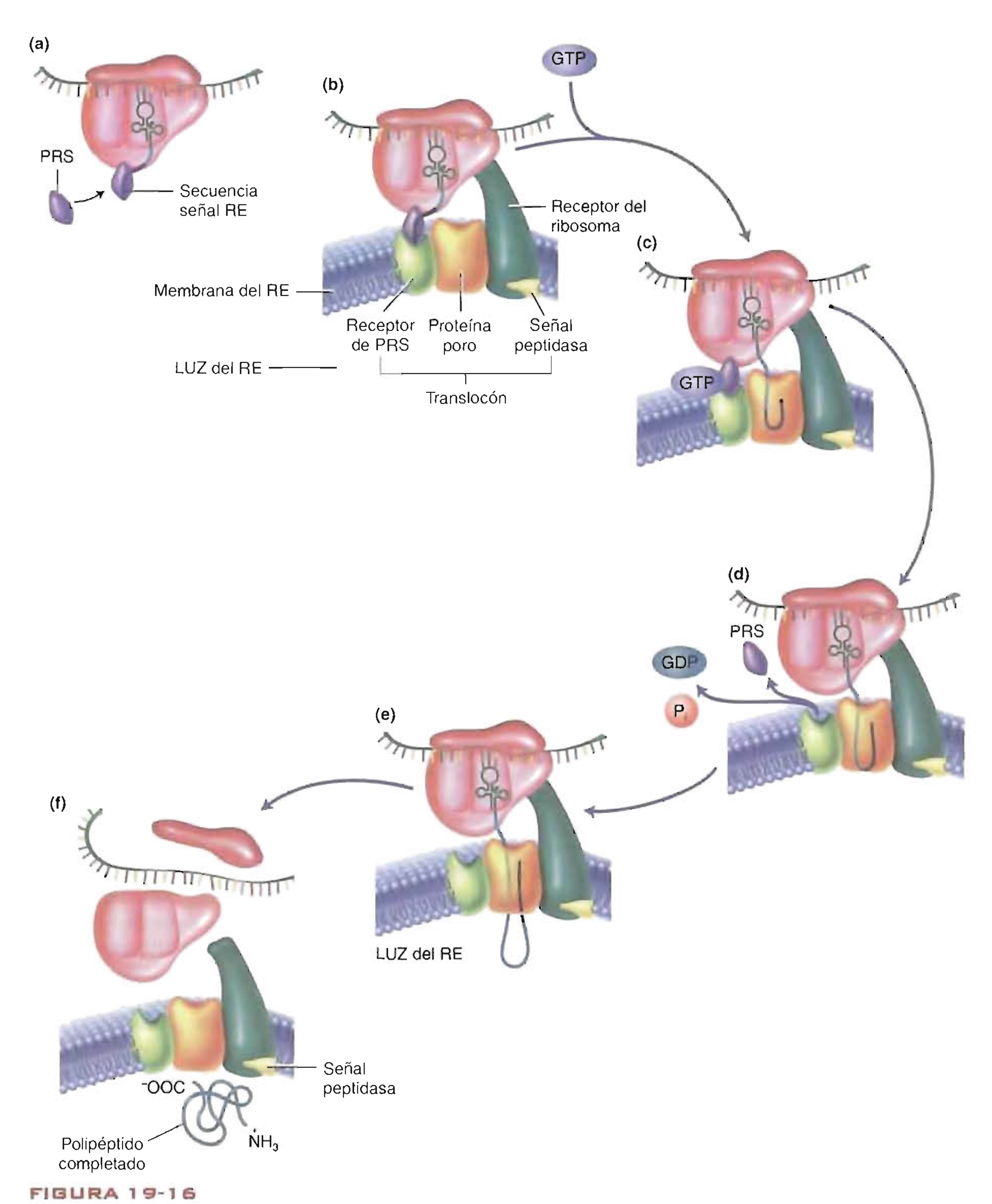


FIGURA 19-16

Transferencia cotraduccional a través de la membrana del RER.

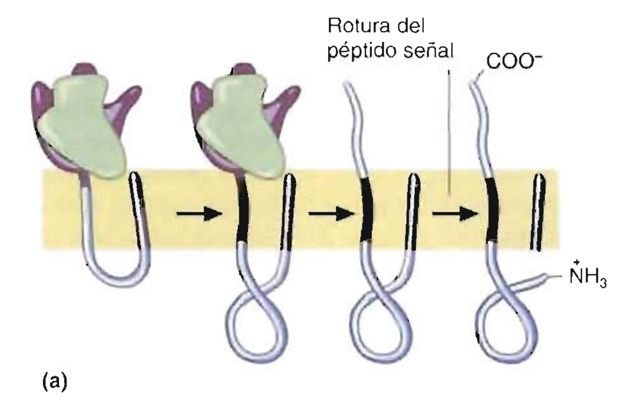
(a) Cuando el polipéptido naciente es lo suficientemente largo para sobresalir del ribosoma, la PRS se une a la secuencia señal, produciendo una detención transitoria de la traducción. (b) La unión posterior de la PRS al receptor de la PRS da lugar a la unión del ribosoma al complejo translocón en la membrana del RER. (c) La síntesis del polipéptido comienza de nuevo al unirse el GTP al complejo PRS-receptor de PRS. La hidrólisis del GTP acompaña a la unión de la secuencia señal al translocón y (d) la disociación de la PRS de su receptor. (e) El polipéptido continúa alargándose hasta que (f) se termina la traducción. El péptido señal se elimina por la señal peptidasa en la luz del RER. El polipéptido se libera en la luz.

detiene temporalmente. Entonces, la PRS intermedia la unión del ribosoma al RER a través de una **proteína de atraque**, un heterodímero que también se denomina proteína receptora de la PRS. Una vez que se ha producido la unión al RER, se reinicia la traducción y el polipéptido creciente se inserta en la membrana. (La translocación simultánea de un polipéptido durante la síntesis proteica suele denominarse **transferencia cotraduccional**.) Al comenzar la traducción, se libera la PRS. Un complejo proteico integral de membrana, que se denomina **translocón**, se cree que intermedia la translocación del polipéptido. El translocón consta de un poro transmembrana hidrófilo y varias proteínas que facilitan la translocación y el procesamiento del polipéptido. Se supone que la hidrólisis del GTP proporciona la energía para empujar a los polipéptidos a través de la membrana del RER, debido a que tanto la PRS como el receptor de la PRS unen GTP. En la **translocación posterior a la traducción**, los polipéptidos que se han sintetizado previamente se arrastran a través de la membrana del RER por una proteína periférica asociada al translocón que une ATP hsp70.

El destino del polipéptido direccionado depende de la localización del péptido señal y de cualquier otra secuencia señal. Como se expone en la Figura 19-16 la transferencia transmembrana de las proteínas secretoras solubles normalmente va seguida por la eliminación por la señal peptidasa de un péptido señal N-terminal, un proceso que libera la proteína al interior de la luz del RE. Estas moléculas generalmente se procesan aún más tras la traducción. La fase inicial de la translocación de las proteínas transmembrana es semejante a la de las proteínas secretoras. En estas moléculas, el péptido señal amino terminal sirve como *señal de comienzo* que permanece unido en la membrana mientras que la secuencia polipeptídica remanente se ensarta a través de la membrana. Las denominadas proteínas transmembrana de un «solo paso» poseen una *señal de parada de la transferencia* (o señal de parada) que impide una transferencia posterior a través de la membrana (Fig. 19-17a). Las proteínas de membrana con múltiples segmentos que se expanden por la membrana (múltiples pasos) poseen una serie de señales alternantes de comienzo y parada (Fig. 19-17b).

La mayoría de las proteínas que se translocan al interior del RER se dirigen a otros destinos. Tras experimentar las modificaciones posteriores a la traducción inicial, tanto las proteínas solubles como las unidas a las membranas se transfieren al complejo de Golgi a través de vesículas de transporte que sobresalen del RE y se fusionan con la cara *cis* de la membrana de Golgi (Fig. 19-18). (Las proteínas que en última instancia residen en el RE poseen señales de retención. En la mayoría de las células de los vertebrados esta señal consiste en el tetrapéptido carboxilo terminal Lys-Asp-Glu-Leu, que suele denominarse con las abreviaturas de una letra KDEL.) Dentro del complejo de Golgi, las proteínas se modifican aún más. Por ejemplo, los oligosacáridos ligados por N se procesan más y tiene lugar una glucosilación ligada por O de determinados residuos de serina y treonina. Las proteínas lisosómicas se dirigen a los lisosomas mediante la adición de un residuo de manosa-6-fosfato. Aún no están claras las señales que dirigen a las proteínas secretoras a la superficie celular (a través de exocitosis) o promueven la expedición de las proteínas de la membrana plasmática a su destino, aunque se ha propuesto un «mecanismo de omisión». (En los mecanismos de omisión, la ausencia de una señal da lugar a una secuencia específica de acontecimientos.) Cuando la modificación proteica se completa, las vesículas de transporte salen de la cara *trans* del Golgi y se mueven hacia sus localizaciones diana.

Como se ha señalado, aunque las mitocondrias y los cloroplastos producen varias de sus propias proteínas, otras proteínas se producen en los ribosomas citoplásmicos y posteriormente se importan. De nuevo se requieren secuencias señal específicas. La importación de polipéptidos al interior de estos orgánulos se complica por la presencia de varias membranas. (Recuerde que tanto las mitocondrias como los cloroplastos contienen varios compartimientos creados por membranas internas.) Por consiguiente, la transferencia de polipéptidos a estos orgánulos suele necesitar varias secuencias señal. En la Figura 19-19 se presenta un ejemplo de este mecanismo de importación (el direccionamiento del citocromo c_1 al espacio de la membrana interna de las mitocondrias).



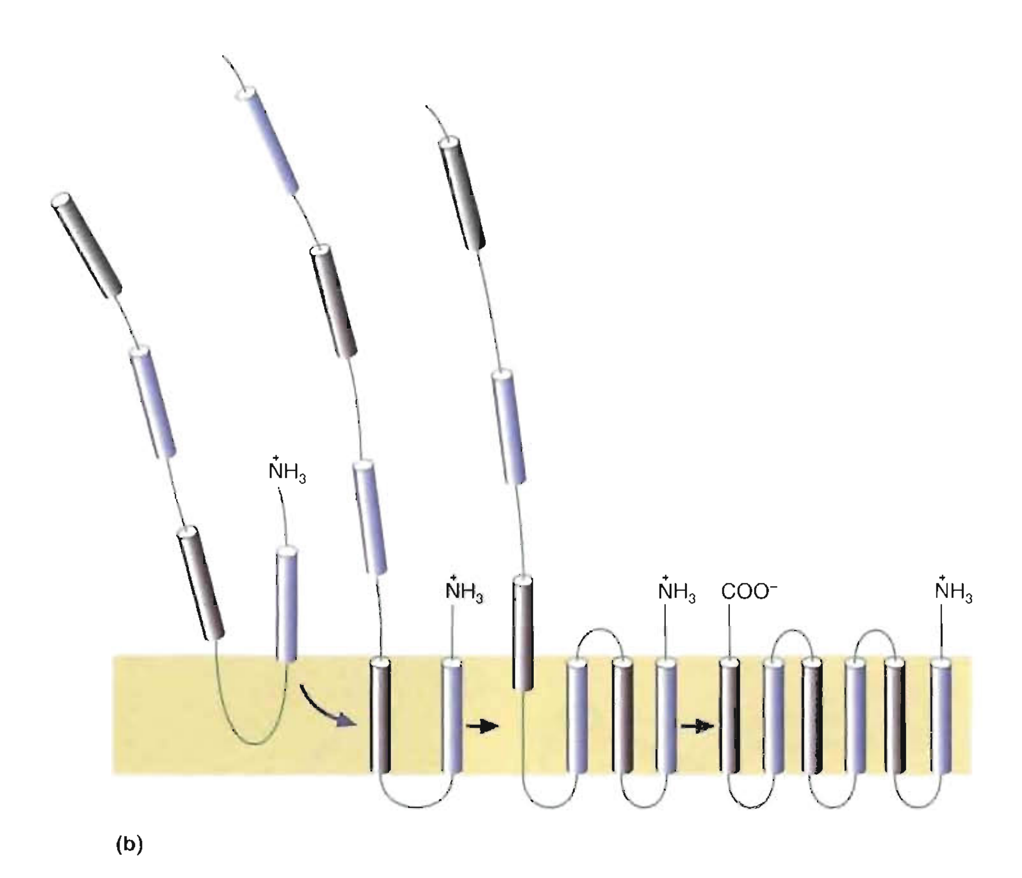


FIGURA 19-17

Transfrerencia cotraduccional de proteínas integrales de membrana.

(a) Transferencia de una proteína de membrana de un único paso. (b) Transferencia de una proteína de membrana de varios pasos. Para una mayor claridad, se ha omitido del esquema el aparato de transferencia. Además, se ha omitido el ribosoma de (b). El segmento sombreado es un péptido señal. El segmento negro es una transferencia de señal de parada.

Relacione y describa las principales clases de modificaciones posteriores a la traducción en los eucariotas. **PREGUNTA 19.12**

Explique la importancia del direccionamiento adecuado de los polipéptidos nacientes. **PREGUNTA 19.13**

Explique los siguientes términos: **PREGUNTA 19.14**

a. péptido señal
b. proteína de atraque
c. partícula de reconocimiento de la señal
d. translocón
e. translocación posterior a la traducción

Describa brevemente los principales mecanismos que utilizan los eucariotas para controlar la traducción. **PREGUNTA 19.15**

Explique las diferencias entre preproproteínas, proproteínas y proteínas. **PREGUNTA 19.16**

PREGUNTA 19.17

El mecanismo del transporte de las proteínas posterior a la traducción al interior de los cloroplastos ha recibido hasta ahora una atención limitada. Sin embargo, la importación de plastocianina a la luz tilacoide requiere dos señales de importación cerca del N-terminal de la proteína recién sintetizada. Suponiendo que la importación de proteínas a los cloroplastos se parece al proceso de importación de las mitocondrias, sugiera una hipótesis razonable para explicar cómo se transporta y procesa la plastocianina (una proteína de la luz asociada con la superficie interna de la membrana tilacoide). ¿Qué actividades enzimáticas y estructuras de transporte espera que participen en este proceso?

MECANISMOS DE CONTROL DE LA TRADUCCIÓN Los mecanismos de control de la traducción en los eucariotas son excepcionalmente complejos, sustancialmente más que los observados en los procariotas. En los eucariotas estos mecanismos parecen producirse de forma continua, desde los controles *globales* (se altera la traducción de una amplia variedad de mRNA) a los controles *específicos* (se altera la traducción de un mRNA específico o un grupo pequeño de mRNA). Aunque la mayoría de los aspectos del control de la traducción en los eucariotas permanecen aún sin resolver, se cree que son importantes las características siguientes:

1. **Exportación del mRNA**. La separación espacial de la transcripción y la traducción que produce la membrana nuclear parece proporcionar a los eucariotas oportunidades significativas para la regulación de la expresión de los genes. Sólo una pequeña porción del RNA que se produce dentro del núcleo llega a entrar en el citoplasma. La mayoría del RNA desechado probablemente son intrones afuncionales. La exportación a través del complejo poro nuclear es un proceso cuidadosamente controlado, impulsado por la energía, cuyos requerimientos mínimos incluyen la presencia de una caperuza 5′ y una cola de poli A 3′.

2. **Estabilidad del mRNA**. En general, la tasa de traducción de cualquier especie de mRNA está relacionada con su abundancia, que a su vez depende de sus tasas de síntesis y degradación. Las semividas de los mRNA van desde alrededor de 20

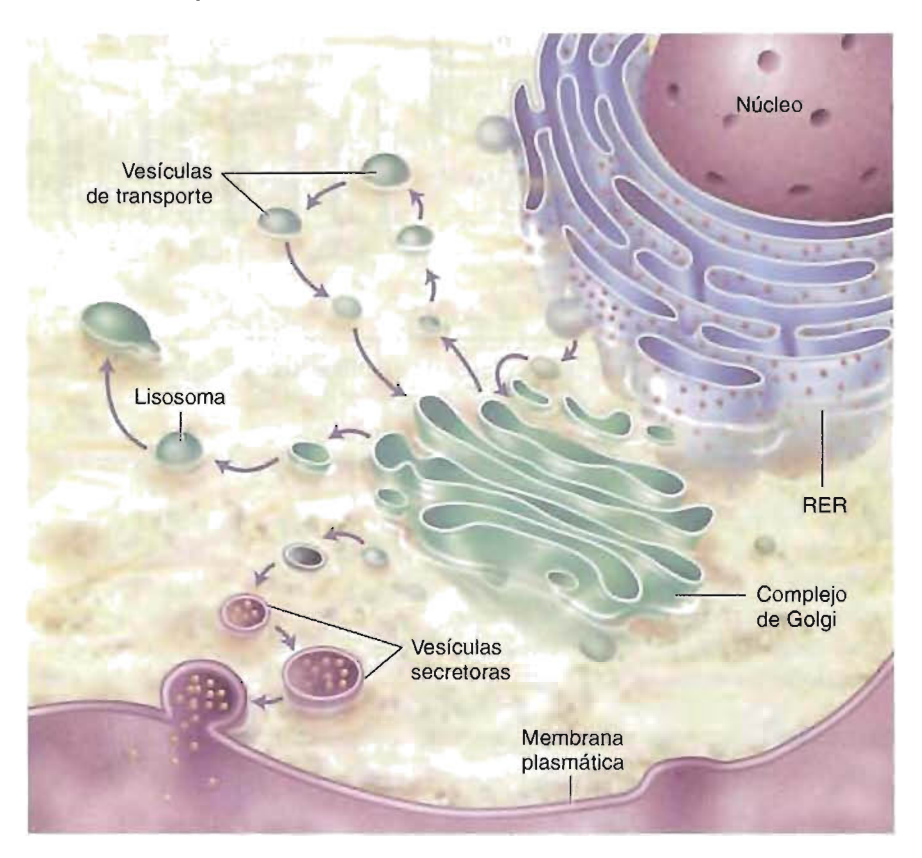


FIGURA 19-18

RE, Golgi y membrana plasmática.

Las vesículas de transporte transfieren componentes nuevos de la membrana (proteínas y lípidos) y productos secretores desde el RE al complejo de Golgi, de una cisterna de Golgi a otra y de un retículo trans-Golgi a otros orgánulos (p. ej., lisosomas) o a la membrana plasmática.

minutos hasta más de 24 horas. Varias características de la estructura de los mRNA afectan su estabilidad, esto es, su capacidad para impedir la degradación por diversas nucleasas. La presencia de determinadas secuencias puede conferir resistencia a la acción de las nucleasas (p. ej., palíndromos que crean horquillas), mientras que otras secuencias pueden aumentar la probabilidad de la acción de las nucleasas, particularmente si se presentan en varias copias. La unión de proteínas específicas a determinadas secuencias puede también afectar la estabilidad del mRNA. Finalmente, la adenilación y desadenilación reversible del extremo 3′ del mRNA influye de forma señalada tanto sobre su estabilidad como sobre su actividad de traducción. Tras el procesamiento en el interior del núcleo, la mayoría de los mRNA se transportan al citoplasma llevando colas de poli A que contienen entre 100 y 200 nucleótidos. Al pasar el tiempo, muchas colas de poli A se acortan progresivamente hasta menos de 30 residuos cuando se degrada el mRNA completo. En determinadas circunstancias, la cola de poli A de algunos mRNA se alarga o se acorta de forma selectiva. Por ejemplo, los mRNA de los ovocitos maduros están «enmascarados» por la eliminación de la mayoría de los nucleótidos de la cola de poli A. Tras la fertilización, estos mRNA se reactivan por la adición de nucleótidos de adenina.

3. Control negativo de la traducción. La traducción de determinados mRNA específicos está bloqueada por la unión de proteínas represoras a secuencias cercanas a los extremos 5′. Un ejemplo muy estudiado es el control de la síntesis de la ferritina. La ferritina, una proteína de almacenamiento de hierro que se encuentra predominantemente en los hepatocitos, se sintetiza en respuesta a las concentraciones elevadas de hierro. El mRNA de la ferritina contiene un elemento de respuesta al hierro (ERH) que une una proteína represora de unión de hierro. Cuando las concentraciones celulares de hierro son elevadas, el gran número de átomos de hierro que

CONCEPTOS CLAVE 19.6

La síntesis de proteínas en los eucariotas es más lenta y más compleja que su correspondiente en los procariotas. Además de requerir un número mayor de factores de traducción y un mecanismo de iniciación más complejo, el proceso eucariota también comporta mecanismos de procesamiento posterior a la traducción y direccionamiento mucho más complicados. Los eucariotas utilizan un amplio espectro de mecanismos de control de la traducción.

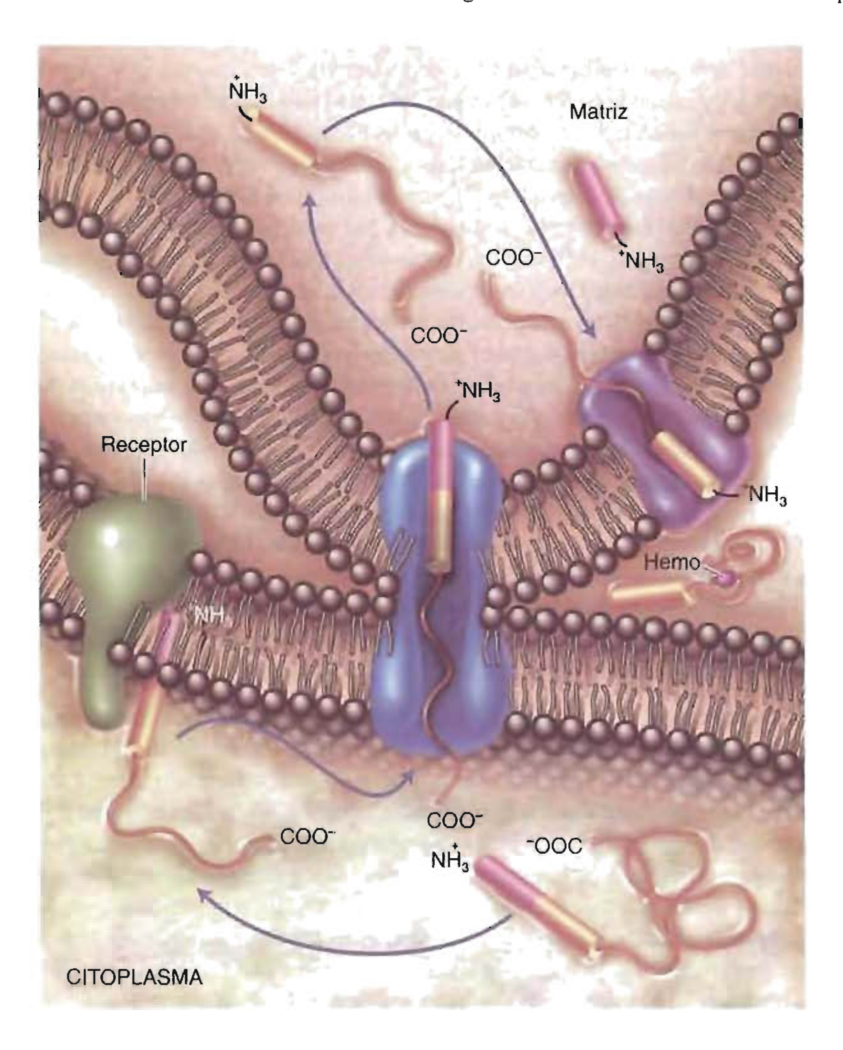


FIGURA 19-19

Transporte posterior a la traducción del citocromo c_1 al interior de la mitocondria.

Tras su síntesis en el citoplasma, el citocromo c_1 debe trasladarse al espacio de la membrana interna mitocondrial. (Recuerde que el citocromo c_1 es un componente del complejo III de la CTE). El direccionamiento del citocromo c_1 requiere dos secuencias. La primera dirige el polipéptido a la matriz. Tras eliminarse esta secuencia mediante una proteasa, la segunda secuencia dirige a la molécula al espacio de la membrana interna. Se elimina también la segunda secuencia de direccionamiento. Tras plegarse y unir un hemo, la molécula se asocia con el complejo III de la membrana interna.

se unen a la proteína represora hace que se disocie de los ERH. Entonces se traduce el mRNA de la ferritina.

4. Fosforilación del factor de iniciación. Se ha observado que la fosforilación del eIF-2 en respuesta a determinadas circunstancias (p. ej., golpe de calor, infecciones víricas y ausencia de factores de crecimiento) disminuye de forma general la síntesis de proteínas. Sin embargo, aumenta la traducción de determinados mRNA. Por ejemplo, aumenta la síntesis de hsp (proteína de choque térmico) en respuesta a un golpe de calor y a otras condiciones agresivas. Se desconocen los mecanismos específicos.

5. Desplazamiento del marco de la traducción. Determinados mRNA parecen contener información estructural que, cuando se activa, da lugar a una variación +1 ó −1 del marco de lectura. Este **desplazamiento del marco de lectura de la traducción**, que suele observarse en las células infectadas por retrovirus, permite que se sinteticen más de un polipéptido con un único mRNA.

El problema del plegamiento

El plegamiento rápido y eficaz de los polipéptidos recién sintetizados en sus estructuras nativas muy específicas es una fase esencial de la transferencia de la información en los seres vivos. La relación directa entre la secuencia primaria de una proteína y su conformación tridimensional final y, por extensión, su actividad biológica, se encuentra entre las suposiciones más importantes de la bioquímica moderna. Uno de los principales apuntalamientos de este paradigma es una serie de experimentos que realizó Christian Anfinsen a finales de los años 1950. Anfinsen (Premio Nobel de Química, 1972) trabajando con la RNasa pancreática bovina, demostró que en condiciones favorables una proteína desnaturalizada puede replegarse a su estado nativo y biológicamente activo (Fig. 5-24). Este descubrimiento sugirió que podía predecirse la estructura tridimensional de cualquier proteína si se comprenden las propiedades físicas y químicas de los aminoácidos y las fuerzas que impulsan el proceso de plegamiento (p. ej., rotaciones de enlace, consideraciones de la energía libre y comportamiento de los aminoácidos en los ambientes acuosos). Desafortunadamente, varias décadas de concienzuda investigación con las herramientas más sofisticadas de las que se dispone (p. ej., cristalografía de rayos X y RMN, en combinación con la mutagénesis de lugar dirigida y los modelos matemáticos con ordenadores) sólo ha proporcionado unos progresos limitados. (La **mutagénesis de lugar dirigida** es una técnica de DNA recombinante en la que pueden introducirse cambios específicos de secuencia en una posición predeterminada en genes clonados.) Brevemente, este trabajo ha revelado que el plegamiento proteico es un proceso escalonado en el que una característica inicial es la formación de la estructura secundaria (hélice α y hoja plegada β). Las interacciones hidrófobas parecen ser una fuerza importante en el plegamiento. Además, las sustituciones de aminoácidos introducidas experimentalmente en determinadas proteínas han descubierto que los cambios de los aminoácidos de la superficie en pocas ocasiones afectan a la estructura de la proteína. Por el contrario, las sustituciones de los aminoácidos dentro del centro hidrófobo suelen conducir a variaciones estructurales importantes de la conformación.

Las limitaciones del modelo tradicional de plegamiento proteico (sólo las interacciones entre las cadenas laterales de los aminoácidos fuerzan a la molécula a plegarse en su forma final) se ponen de manifiesto por las siguientes consideraciones:

1. Restricciones temporales. El tiempo para sintetizar las proteínas oscila entre unos pocos segundos a algo más de unos pocos minutos. De acuerdo con un modelo destacado de plegamiento proteico, un polipéptido recién formado intenta todas las conformaciones posibles hasta que se alcanza la más estable. Los cálculos del tiempo que se requiere para que cada enlace de una pequeña molécula proteica gire hasta que se consigue la forma biológicamente activa indica que se requerirían un número astronómico de años. Aún cuando sólo se considere un número más pequeño de posibles rotaciones de enlace, el tiempo requerido para el plegamiento aún se mide en años. Por lo tanto, la mayoría de los investigadores han concluido que el plegamiento proteico no es un proceso aleatorio que sólo se basa en la secuencia primaria.

RECUADRO DE INTERÉS ESPECIAL 19.2. Plegamiento proteico y enfermedad humana

Los plegamientos y la agregación proteicos erróneos son una característica importante de diversas enfermedades humanas. Estas enfermedades se denominan **enfermedades conformacionales**, debido a que se cree que están causadas, al menos en parte, por cambios conformacionales anormales de determinadas proteínas. Entre los ejemplos destacados se encuentran la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Creutzfeld-Jacob. A continuación se considera brevemente cada una de ellas.

Enfermedad de Alzheimer

La **enfermedad de Alzheimer** (EA) es una enfermedad progresiva y, en ultima instancia, mortal que se caracteriza por un deterioro grave de la función intelectual. La EA se manifiesta con pérdidas de memoria de corta duración. Finalmente, una pérdida grave de la memoria, desorientación y agitación acompañan a una pérdida total de la personalidad del paciente. La EA que está producida por la muerte neuronal de las regiones del cerebro relacionadas con la memoria y el conocimiento, se diagnostica en las autopsias por la presencia de agregados insolubles de restos proteináceos extracelulares que se denominan **depósitos de amiloide** (o placas seniles) junto con otras señales anatómicas características. El centro de los depósitos de amiloide está compuesto principalmente por un péptido de 30-42 residuos que se denomina proteína β-amiloide, que se genera por la rotura proteolítica de la proteína precursora del amiloide (APP), una glucoproteína transmembrana cuya función aún se desconoce. Las mutaciones del gen de la APP (cromosoma 21) producen casos hereditarios de la enfermedad. Por razones que aún no están claras, el β-amiloide, un péptido soluble que producen la mayoría de las células, se agrega para formar las fibrillas virtualmente insolubles que caracterizan a la enfermedad.

Enfermedad de Creutzfeld-Jacob

La **enfermedad de Creutzfeld-Jacob** (ECJ) es una enfermedad neurodegenerativa poco frecuente que presenta formas hereditarias e infecciosas. La ECJ, que se caracteriza por demencia y deterioro de la coordinación de los movimientos, es una de las diversas enfermedades humanas que se denominaron encefalopatías espongiformes transmisibles, pero que actualmente se clasifican como enfermedades priónicas. El concepto de **prión** (*pro*teinaceous *in*fectios particle: partícula proteinácea infecciosa) fue introducido por Stanley Prusiner para explicar el modo de transmisión de enfermedades animales semejantes como la tembladera de las ovejas y la enfermedad de las vacas locas del ganado bovino. El tratamiento de los extractos tisulares de los animales enfermos que se sabía contenían el agente causal con las técnicas convencionales que destruyen a los ácidos nucleicos fracasaron en la prevención de la transmisión. Prusiner observó también que los cerebros de los animales infectados contenían una proteína resistente a las proteasas que el llamó posteriormente prión. Utilizando técnicas de clonación génica, los investigadores descubrieron finalmente que la proteína prión está codificada por un gen normal del cromosoma 20. La proteína prión normal (PrP^C) es una molécula sensible a la proteasa que contiene una hélice α que es soluble en determinados disolventes no desnaturalizantes. Las enfermedades priónicas se producen cuando la conformación de PrP^C se convierte en PrP^{Sc}, una versión mal plegada que contiene una hoja plegada β que es resistente a la proteasa e insoluble. Aún permanecen sin resolver los mecanismos que dan lugar a esta conformación alterada. Se sabe que la ECJ hereditaria está producida por mutaciones del gen prión. La ECJ infecciosa se produce como consecuencia de la exposición al agente infeccioso. Por ejemplo, la ECJ se ha ligado al trasplante de córneas infectadas y al consumo de carne de buey infectada. Numerosas investigaciones de las enfermedades priónicas infecciosas indican que se forma un complejo entre el agente infeccioso PrP^{Sc} y la proteína prión normal (PrP^C) una vez que la última ha alcanzado la superficie celular. Actuando como molde, la PrP^{Sc} fuerza a la PrP^C a plegarse en la conformación anormal. Al acumularse la PrP^{Sc} en el cerebro, aparecen agujeros en el tejido nervioso que destruyen su función.

2. **Complejidad.** Los cálculos que se requieren en los modelos matemáticos de plegamiento proteico de acuerdo con los datos físicos (p. ej., ángulos de enlace y grados de rotación) son extremadamente complejos. Por lo tanto, en este momento parece poco probable que ellos solos puedan resolver los principios de lo que parece ser en los seres vivos un proceso sorprendentemente rápido y elegante.

En los últimos años, los bioquímicos han realizado avances importantes en la investigación sobre el plegamiento proteico utilizando combinaciones imaginativas de tecnologías como la mutagénesis de lugar dirigida, la RMN multidimensional y el dicroismo circular, por nombrar unas pocas. (El **dicroismo circular** (CD) es un tipo de espectroscopía en la que se analiza la relación entre el movimiento molecular y la estructura mediante la radiación electromagnética.) Utilizando estas técnicas en marcos temporales de submilisegundos, los investigadores del plegamiento proteico han determinado que el proceso no consiste, como se pensó originalmente, en una única ruta, sino que un polipéptido puede tomar numerosas rutas para plegarse en su estado nativo. Como se presenta en la Figura 19-20, un panorama energético con una forma de embudo parece describir mejor la forma en la que un polipéptido desplegado con su propio y único conjunto de impedimentos (p. ej., su secuencia de aminoácidos y modificaciones posteriores a la traducción y características ambientales del interior de la célula como la temperatura, el pH y el apiñamiento molecular) gestiona su camino hacia un estado plegado de baja energía. Dependiendo de su tamaño, un polipéptido puede o no formar intermediarios (especies que existen el tiempo

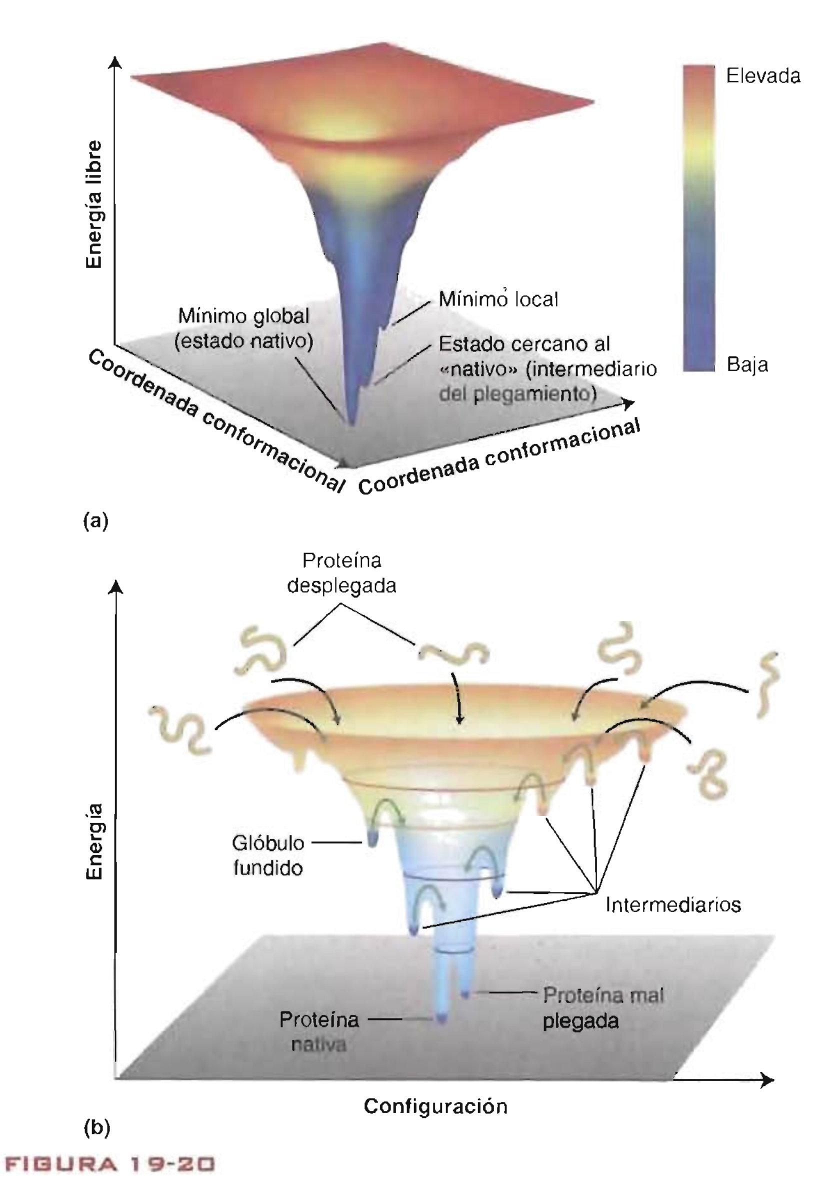


FIGURA 19-20

Panorama energético para el plegamiento proteico.

(a) Se utiliza el color para indicar el nivel de entropía del polipéptido que se pliega. Al avanzar el plegamiento, el polipéptido se desplaza desde un estado desordenado (entropía elevada, rojo) hacia una conformación progresivamente más ordenada hasta que se consigue su conformación singular biológicamente activa (menor entropía, azul). En (b), una visión más realista del panorama energético, los polipéptidos pueden plegarse en sus estados nativos mediante varias rutas diferentes. Muchas moléculas forman intermediarios transitorios, mientras que otras pueden quedar atrapadas en un estado mal plegado.

suficiente para detectarse) que son momentáneamente atrapadas en pozos de energía local (Fig. 19-20). Las moléculas pequeñas (menos de 100 residuos) suelen plegarse sin formación de intermediarios (Fig. 19-21a). Al comenzar a emerger del ribosoma estas moléculas, comienza un proceso de plegamiento rápido y cooperativo en el que las interacciones de las cadenas laterales (exclusión del disolvente de las regiones hidrófobas, fuerzas de van der Waals y enlaces de hidrógeno) facilitan la formación y el alineamiento de las estructuras secundarias. El plegamiento de los polipéptidos más grandes suele requerir la formación de varios intermediarios (Fig. 19-21b,c). En muchas de estas moléculas o de los dominios dentro de una molécula, la forma colapsada hidrófobamente del intermediario se denomina glóbulo fundido. El término **glóbulo fundido** se refiere a un estado globular parcialmente organizado de

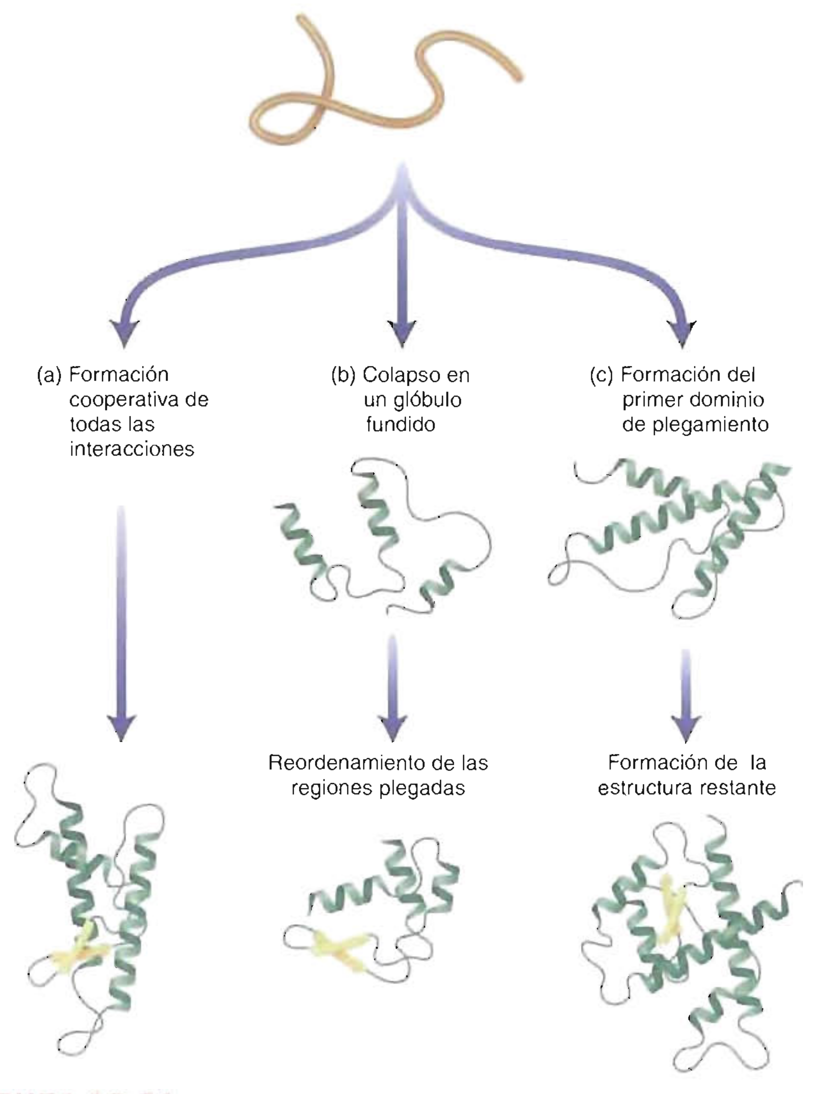


FIGURA 19-21

Plegamiento proteico.
(a) En muchas proteínas pequeñas, el plegamiento es cooperativo y no se forman intermediarios. (b) En algunas proteínas más grandes, el plegamiento requiere la formación inicial de un glóbulo fundido y luego un reordenamiento en la conformación nativa. (c) Las proteínas grandes con varios dominios siguen una ruta más compleja en la que cada uno de los dominios se pliega de forma separada antes de que la molécula llegue a su conformación nativa.

un polipéptido que se pliega y que se asemeja al estado nativo de la molécula. Dentro de un glóbulo fundido las interacciones terciarias entre las cadenas laterales de los aminoácidos son fluctuantes, es decir, aún no se han estabilizado.

Está cada vez más claro que el plegamiento y el direccionamiento de muchas proteínas en las células se produce con la colaboración de un grupo de moléculas que se denominan **chaperonas moleculares**. Estas moléculas, la mayoría de las cuales parecen ser hsp, aparentemente se encuentran en todos los organismos. Se han encontrado varias clases de chaperonas moleculares en organismos que van desde bacterias a animales superiores y plantas. Además, también se encuentran en varios orgánulos eucariotas, como las mitocondrias, los cloroplastos y el RE. Existe un grado elevado de homología de secuencia entre las chaperonas moleculares de todas las especies investigadas hasta la fecha. A continuación se describen las propiedades de varias de estas moléculas importantes.

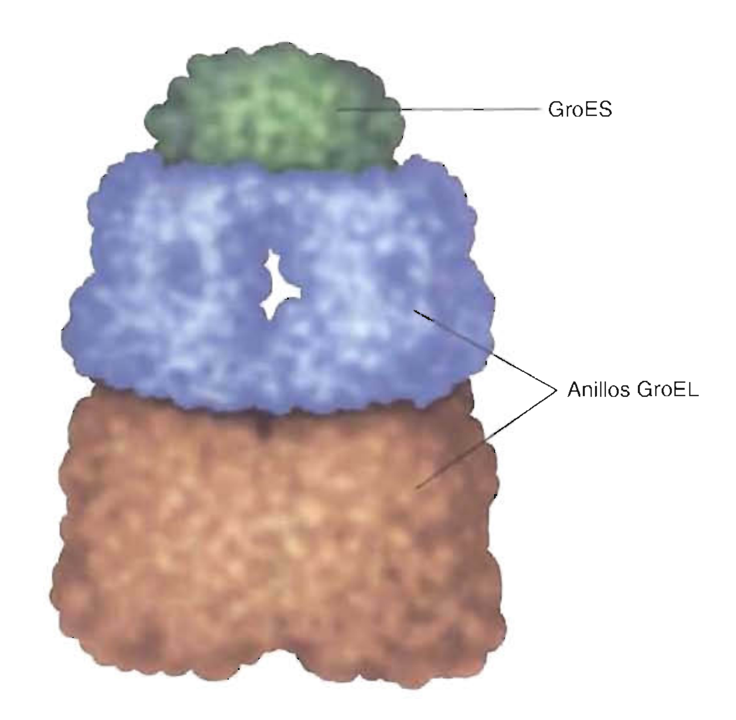


FIGURA 19-22

Modelo de relleno espacial de la chaperonina de *E. coli* denominada complejo GroES-GroEL.

GroES (oro) es un anillo de siete miembros que descansa sobre la parte superior de GroEL, que está formado por dos anillos apilados de siete miembros (verde y rojo). Dentro de GroEL hay una cavidad en la que se produce el plegamiento de la proteína dependiente de ATP.

CHAPERONAS MOLECULARES Las chaperonas moleculares aparentemente ayudan a las proteínas desplegadas de dos formas. En primer lugar, durante un tiempo finito entre la síntesis y el plegamiento, las proteínas deben estar protegidas de las interacciones inadecuadas proteína-proteína. Algunas proteínas deben permanecer desplegadas hasta que se insertan en la membrana de un orgánulo, por ejemplo, determinadas proteínas de las mitocondrias y los cloroplastos. En segundo lugar, las proteínas deben plegarse rápida y precisamente en sus conformaciones correctas. Algunas deben ensamblarse en complejos con varias subunidades. Las investigaciones del plegamiento proteico en diversos organismos han descubierto que en el plegamiento proteico participan dos clases principales de moléculas chaperonas.

1. **Hsp70s**. Las **hsp70** son una familia de chaperonas moleculares que se unen a las proteínas y las estabilizan durante las primeras fases del plegamiento. Numerosos monómeros de hsp70 se unen a segmentos hidrófobos cortos en los polipéptidos desplegados, impidiendo de esta manera la formación de los glóbulos fundidos. Cada clase de hsp70 posee dos lugares de unión, uno para un segmento proteico desplegado y otro para el ATP. La liberación de un polipéptido de una hsp70 requiere la hidrólisis del ATP. Se requieren hsp70 mitocondrial y del RE para la translocación transmembrana de algunos polipéptidos.
2. **Hsp60**. Una vez liberado por la hsp70 un polipéptido desplegado, se pasa a un miembro de una familia de chaperonas moleculares que se denominan **hsp60** (también llamadas **chaperoninas** o *Cpn60*), que intermedia el plegamiento proteico. La hsp60 forma una gran estructura compuesta por dos anillos de siete subunidades apiladas por el que entran las proteínas desplegadas (Fig. 19-22). En un proceso que requiere ATP, la hsp60 facilita a continuación la transformación de una molécula desplegada en una plegada adecuadamente. Permanecen sin resolver muchos de los detalles de este proceso.

Además de promover el plegamiento de las proteínas nacientes, las chaperonas moleculares dirigen el replegamiento de la proteína parcialmente desplegada como consecuencia de condiciones agresivas. Si no es posible el replegamiento, las chaperonas moleculares promueven la degradación proteica. En la Figura 19-23 se presenta una visión esquemática del plegamiento proteico.

CONCEPTOS CLAVE 19.7

Toda la información que se requiere para que cada polipéptido recién sintetizado se pliegue en su conformación biológicamente activa está codificada en la secuencia primaria de la molécula. Algunos polipéptidos relativamente sencillos se pliegan espontáneamente en sus conformaciones nativas. Otras moléculas más grandes requieren la asistencia de proteínas que se denominan chaperonas moleculares para asegurar el plegamiento correcto.

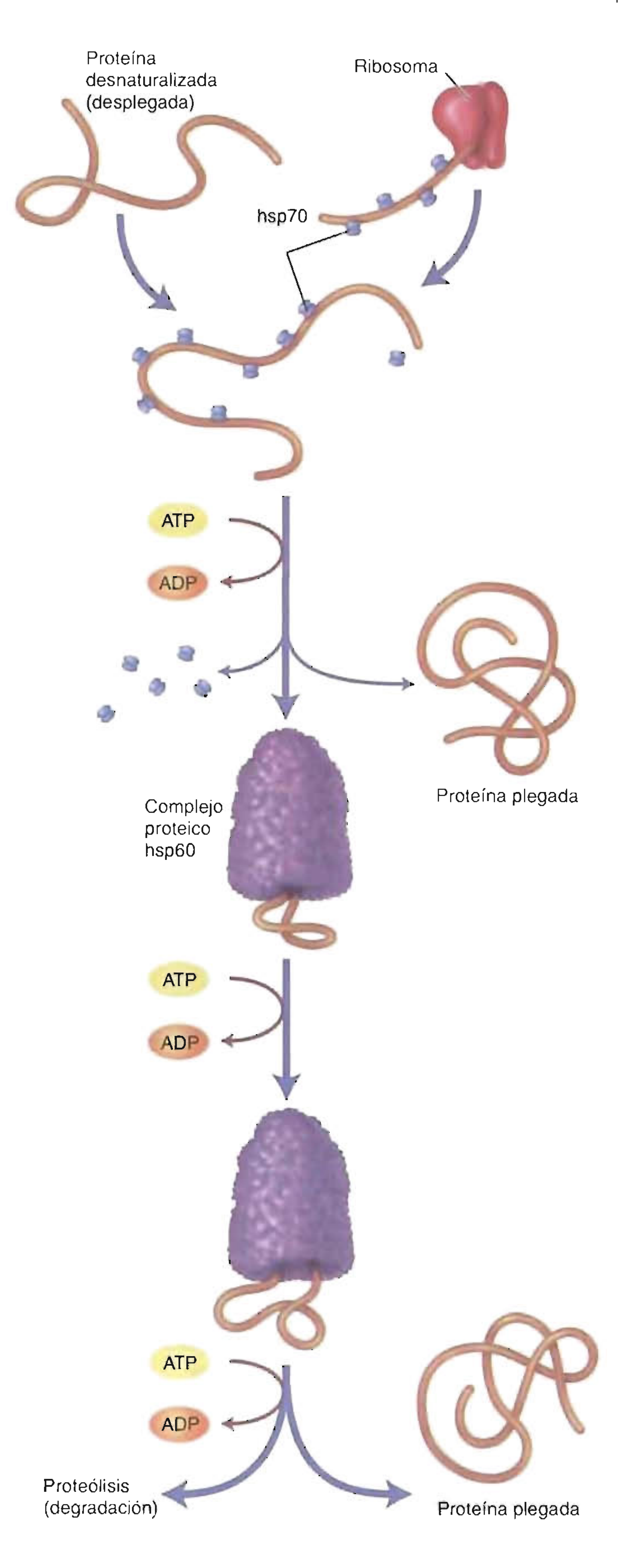


FIGURA 19-23

Chaperonas moleculares.

Las chaperonas moleculares se unen de forma transitoria a las proteínas nacientes y a las proteínas desplegadas (desnaturalizadas por las condiciones agresivas). Los miembros de la familia hsp70 estabilizan las proteínas nacientes y reactivan algunas proteínas desnaturalizadas. Muchas proteínas requieren también las proteínas hsp60 para alcanzar sus conformaciones finales. Si una proteína no puede salvarse, las chaperonas moleculares ayudan a destruirla.

La proteómica es una tecnología que se está poniendo a punto en la actualidad para investigar el proteoma, la producción funcional del genoma. La acumulación de datos genéticos del que se dispone en la actualidad ha proporcionado información de la secuencia primaria de miles de proteínas. Sin embargo, se desconoce la identidad y la función de muchas de estas moléculas. Además, las alteraciones estructurales de muchas proteínas no pueden predecirse sólo con las secuencias de ácidos nucleicos, debido al corte y empalme alternativo de los mRNA o a las modificaciones químicas que se producen después de la traducción. Al ir llegando a su fin los esfuerzos secuenciadores de muchos proyectos genoma, la atención de los bioquímicos y los biólogos moleculares se está desviando hacia el análisis de los productos proteicos. Los objetivos de la proteómica son principalmente de dos clases: estudiar los cambios globales de la expresión de las proteínas celulares y determinar la identidad y las funciones de todas las proteínas de los proteomas de los organismos. Las potenciales aplicaciones de la investigación proteómica son muchas y variadas. Además de proporcionar oportunidades para resolver problemas biológicos básicos (p. ej., determinar los mecanismos precisos por medio de los cuales se producen los procesos celulares como el transporte neuronal o el corte y empalme del mRNA), la tecnología basada en la proteómica tiene también utilizaciones evidentes en la investigación biomédica. Entre las últimas investigaciones se encuentran las causas y el diagnóstico de las enfermedades genéticas e infecciosas y el descubrimiento de fármacos.

Herramientas proteómicas

La investigación de los proteomas se centra en la actualidad principalmente en la puesta a punto de métodos exactos y relativamente rápidos para identificar y caracterizar a las proteínas. Entre las tecnologías más antiguas que se utilizan en la proteómica se encuentra la electroforesis bidimensional en gel y la espectrometría de masas. A continuación se describe la utilización de cada una de ellas.

Electroforesis bidimensional en gel. La expresión de las proteínas se analiza en la actualidad con geles bidimensionales (2-D). Las proteínas se separan de acuerdo con la carga (dentro de un gradiente de pH) en la primera dimensión del gel, y de acuerdo con la masa molecular en la segunda (Fig. 19B). Hasta 3000 proteínas individuales pueden observarse en un gel 2-D. El análisis de las proteínas de muchos geles (p. ej., determinaciones de la presencia, ausencia o concentración relativa de proteínas específicas en células sanas y enfermas) se realiza mediante comparaciones de imágenes 2-D de los geles con las bases de datos del proteoma y con la ayuda de programas especializados de ordenador. Aunque la tecnología en gel 2-D se ha mejorado tanto en velocidad como en capacidad, también tiene sus limitaciones. Además de requerir mucho trabajo, los geles 2-D no son útiles en la evaluación de determinados tipos de proteínas, como las proteínas de membrana o las proteínas que se encuentran en concentraciones muy bajas. Se están desarrollando tecnologías nuevas para superar estos problemas.

Espectrometría de masas. La **espectrometría de masas** (EM) es una técnica en la que las moléculas se evaporan y luego se bombardean con un haz de electrones de energía elevada haciendo que se fragmenten en forma de cationes. Al entrar en el espectrómetro los fragmentos ionizados pasan a través de un campo magnético fuerte que los separa de acuerdo con su cociente masa/carga (m/z). Cada clase de molécula se identifica por el patrón de fragmentos que se genera, siendo único cada patrón de «huellas». Como las proteínas no se evaporan, en su lugar se digieren y luego se disuelven en un disolvente volátil y se pulverizan en la cámara de vacío del espectrómetro de masas. El haz de electrones ioniza estos fragmentos peptídicos y los péptidos cargados positivamente se pasan a través del campo magnético. Las huellas de masas del péptido que se producen se comparan posteriormente con la información de la fragmentación de las bases de datos de las proteínas. Aunque la EM es muy exacta y automática, no suele ser suficiente para investigar todas las proteínas de una muestra. Para mejorar la identificación de las proteínas se ha desarrollado la EM tándem (EM/EM), un método en el que se unen en tándem dos espectrómetros de masas. En esta técnica los fragmentos de oligopéptido que se producen en el primer EM se transfieren posteriormente al segundo EM, donde se fragmentan más y se analizan. La EM/EM se utiliza para secuenciar rápidamente las proteínas.

A pesar de los avances recientes en las técnicas de investigación proteómica, diversos problemas suponen una barrera seria para llevar a cabo la enorme tarea de caracterizar el proteoma completo. Entre las más importantes se encuentran la necesidad continua de mejorar en gran medida la eficacia, y la carencia de una técnica equivalente a la PCR para la amplificación de las proteínas que se encuentran en cantidades muy pequeñas.

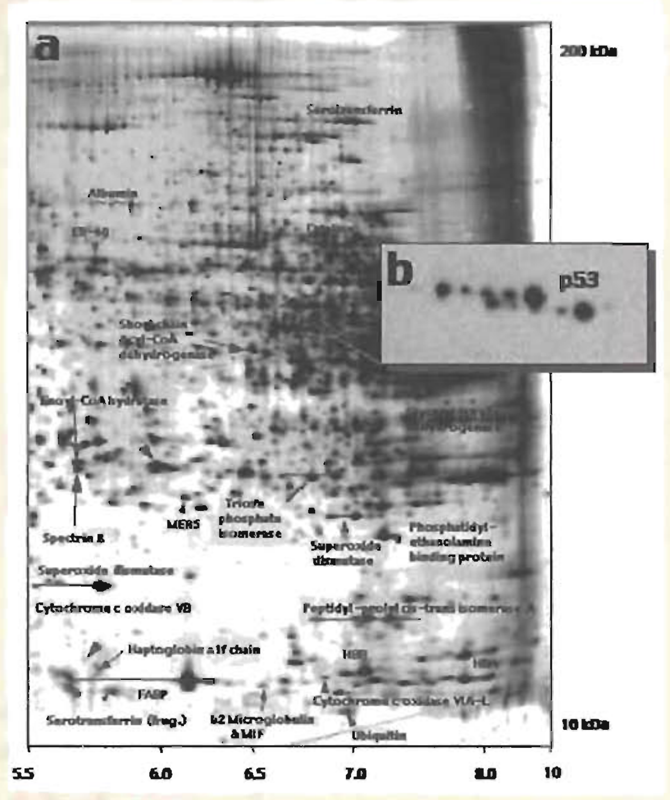


FIGURA 19B

Patrón bidimensional en gel.
Tras añadir el extracto de hígado al gel, se corre primero en un gradiente de pH (puntos isoeléctricos) y luego en un SDS-PAGE para separar las proteínas de acuerdo con su masa molecular. La inserción muestra un agrandamiento de múltiples versiones de p53, un producto de un protooncogén, que se ha revelado por tratamiento con anticuerpos.

RESUMEN

1. La síntesis proteica es un proceso complejo en el que la información codificada en los ácidos nucleicos se traduce en la secuencia primaria de las proteínas. Durante la fase de traducción de la síntesis de proteínas, la incorporación de cada aminoácido está especificada por uno o varios tripletes de nucleótidos que se denominan codones. El código genético consta de 64 codones: 61 codones que especifican los aminoácidos y tres codones de parada. La traducción comporta también los tRNA, un conjunto de moléculas que actúan como portadoras de los aminoácidos. Las interacciones de apareamiento de bases entre los codones y la secuencia de bases de los anticodones de los tRNA da lugar a la traducción exacta de los mensajes genéticos. La traducción consta de tres fases: iniciación, elongación y terminación. Cada fase requiere varios tipos de factores proteicos. Aunque los mecanismos de la traducción en procariotas y eucariotas tienen una notable semejanza entre ellos, se diferencian en diversos aspectos. Una de las diferencias más notables es la identidad y la función de los factores de traducción.
2. La síntesis proteica implica también un conjunto de modificaciones posteriores a la traducción que preparan a la molécula para su función, la ayudan en el plegamiento o la dirigen a sus destinos específicos. Estas alteraciones covalentes son el procesamiento proteolítico, la modificación de determinadas cadenas laterales de los aminoácidos y la inserción de cofactores.
3. Los procariotas y los eucariotas se diferencian en su utilización de los mecanismos de control de la traducción. Además de las variaciones de las secuencias Shine-Dalgarno, los procariotas utilizan también un control negativo de la traducción, esto es, la represión de la traducción de un mRNA policistrónico por uno de sus productos. Por el contrario, se ha observado una gran variedad de controles de la traducción en los eucariotas. Estos mecanismos van desde los controles globales, en los que se altera la tasa de traducción de un gran número de mRNA, a los controles específicos, en los que se altera la traducción de un mRNA específico o de un pequeño grupo de mRNA.
4. Uno de los aspectos más importantes de la síntesis de proteínas es el plegamiento de los polipéptidos en sus conformaciones biológicamente activas. A pesar de décadas de investigación sobre las propiedades físicas y químicas de las cadenas polipeptídicas, permanece sin resolver el mecanismo por el que la secuencia primaria dicta la conformación final de la molécula. Cada vez está más claro que muchas proteínas requieren chaperonas moleculares para plegarse en sus conformaciones tridimensionales finales. Se sabe en la actualidad que los errores del plegamiento proteico son una característica importante en varias enfermedades humanas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Creutzfeld-Jacob.
5. La proteómica es una tecnología que se utiliza para investigar el proteoma, el conjunto completo de proteínas que produce el genoma de un organismo. Los objetivos de la proteómica son el estudio de los cambios globales de la expresión de las proteínas celulares con el tiempo y la determinación de la identidad y las funciones de todas las proteínas producidas por los organismos.

LECTURAS RECOMENDADAS

Arnez, J. G. and Moras, D., Structural and Functional Considerations of the Aminoacylation Reaction, *Trends Biochem. Sci.*, 22(6):211-216, 1997.

Blackstock, W. P., and Weir, M. P., Proteomics: Quantitative and Physical Mapping of Cellular Proteins, *Trends Biotech.*, 17:121-127, 1999.

Chambers, G., Lawrie, L., Cash, P., and Murray, G. I., Proteomics: A New Approach to the Study of Disease, *J. Path.*, 192(3):280-288, 2000.

Craig, E. A., Chaperones: Helpers Along the Pathways to Protein Folding, *Science,* 260:1902-1903, 1993.

Ezzell, C., Proteins Rule, *Sci. Amer.*, 286(2):40-47, 2002.

Ferreira, S. T., and De Felice, F. G., Protein Dynamics, Folding and Misfolding: From Basic Physical Chemistry to Human Conformational Diseases, *FEBS Lett.*, 498:129-134, 2001.

Noller, H. F., Hoffarth, V., and Zimniak, L., Unusual Resistance of Peptidyl Transferase to Protein Extraction Procedures, *Science*, 256:1416-1419, 1992.

Paulus, H., Protein Splicing and Related Forms of Protein Autoprocessing, *Annu. Rev. Biochem.*, 69:447-496, 2000.

Radford, S. E., Protein Folding: Progress Made and Promises Ahead, *Trends Biochem. Sci.*, 25:611-618, 2000.

Rothman, J. E., and Wieland, F. T., Protein Sorting by Transport Vesicles, *Science*, 272:227-234, 1996.

Schatz, G., and Dobberstein, B., Common Principles of Protein Translocation across Membranes, *Science,* 271:1519-1526, 1996.

Stansfield, I., Jones, K. M., and Tuite, M. F., The End in Site: Terminating Translation in Eukaryotes, *Trends Biochem. Sci.*, 20(12):489-491, 1995.

Weissman, J. S., All Roads Lead to Rome? The Multiple Pathways of Protein Folding. *Chem. Biol.*, 2:255-260, 1995.

Welch, W. J., How Cells Respond to Stress, *Sci. Amer.*, 268(5):56-64, 1993.

PALABRAS CLAVE

anhídrido, *667*
anhídrido mixto, *667*
anticodón, *665*
chaperona molecular, *695*
chaperonina, *696*
código genético, *663*
codón, *663*
corte y empalme proteico, *685*
depósito de amiloide, *693*
desplazamiento del marco de traducción, *692*
dicroismo circular, *693*
direccionamiento, *671*
elongación, *668*
enfermedad de Alzheimer, *693*
enfermedad conformacional, *693*
enfermedad de Creutzfeld-Jacob, *693*
espectroscopía de masas, *698*
exteína, *686*
factor de liberación, *672*
glóbulo fundido, *694*
hipótesis del bamboleo, *665*
hipótesis señal, *686*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Relacione y describa cuatro propiedades del código genético.
2. ¿Qué dos observaciones llevaron a la hipótesis del bamboleo?
3. Describa las dos reacciones secuenciales que tienen lugar en el lugar activo de las aminoacil-tRNA sintetasas.
4. ¿Cuáles son las principales diferencias entre la traducción eucariota y procariota?
5. ¿Cuáles son las principales diferencias de los mecanismos de control de la traducción eucariota y procariota?
6. ¿Cuáles son los tres pasos del ciclo de elongación?
7. Describa cómo tiene lugar la lectura de pruebas cinéticas.
8. Defina claramente los siguientes términos:
   a. direccionamiento
   b. exploración
   c. codón
   d. marco de lectura
   e. chaperonas moleculares
   f. intercambio disulfuro
   g. lugar de lectura de pruebas
   h. péptido señal
   i. glucosilación
   j. regulación negativa de la traducción.
9. Describa la estructura y función de la partícula de reconocimiento de la señal.
10. Describa la función del translocón en la transferencia cotraduccional.
11. Describa cómo puede afectar al control de la traducción la estructura del mRNA eucariota.
12. En términos generales, describa el procesamiento intracelular de una glucoproteína típica que en una célula está destinada a la secreción.
13. Describa los problemas asociados con la determinación de la forma tridimensional final de un polipéptido utilizando como guía su estructura primaria.
14. Describa las funciones de las chaperonas moleculares más destacadas en el plegamiento proteico.
15. Defina los siguientes términos:
    a. proteómica
    b. preproteína
    c. corte y empalme proteico
    d. mutagénesis de lugar dirigida
    e. prión
    f. naciente
    g. proteína motora
    h. glóbulo fundido
16. Describa el proceso de corte y empalme proteico
17. ¿Por qué se describe a los tRNA como moléculas adaptadoras?
18. ¿Qué pasos del ciclo de elongación de la síntesis de proteínas requieren la hidrólisis de GTP? ¿Qué papel desempeña en cada paso?

PREGUNTAS DE RAZONAR

1. Las estructuras tridimensionales de los RNA ribosómicos y de las proteínas ribosómicas son notablemente similares entre las especies. Sugiera las razones de estas semejanzas.
2. Explique el significado de la siguiente afirmación: el funcionamiento de las aminoacil-tRNA sintetasas se denomina segundo código genético.
3. Aunque las aminoacil-tRNA sintetasas cometen pocos errores, en ocasiones se produce un error. ¿Cómo pueden detectarse y corregirse estos errores?
4. ¿Cuáles son las tres fases de la síntesis de proteínas? Describa los acontecimientos principales de cada fase. ¿Qué funciones específicas desempeñan los factores de transcripción en los procesos de traducción procariota y eucariota?
5. Determine la secuencia del codón de la secuencia peptídica glicilserilcisteinilarginilalanina. ¿Cuántas posibilidades existen?
6. Indique la fase de la síntesis de proteínas durante la cual se producen cada uno de los siguientes procesos:
   a. Una subunidad ribosómica se une a un RNA mensajero.
   b. Se sintetiza realmente el polipéptido.
   c. Se mueve el ribosoma a lo largo de la secuencia del codón.
   d. Se disocia el ribosoma en sus subunidades.
7. Calcule el número mínimo de moléculas de ATP y GTP que se requieren para polimerizar 200 aminoácidos.
8. Razone la función del GTP en el funcionamiento de los factores de traducción.
9. Las modificaciones posteriores a la traducción tienen varios fines. Señálelos y dé algunos ejemplos.
10. Describa la forma en la que el apareamiento de bases entre la secuencia Shine-Dalgarno y la subunidad 30S proporciona un mecanismo para diferenciar un codón de comienzo de un codón de metionina. ¿Cuál es la versión eucariota de este mecanismo?

11. Dada la secuencia de aminoácidos de un polipéptido ¿puede predecirse la secuencia de bases del mRNA que lo codifica?
12. Debido a la semejanza estructural entre la isoleucina y la valina, las aminoacil-tRNA sintetasas que los ligan a sus tRNA respectivos poseen lugares de lectura de pruebas. Examine las estructuras de los otros α-aminoácidos y determine otros conjuntos de aminoácidos cuyas semejanzas estructurales puedan requerir también lectura de pruebas.
13. ¿Qué ventajas existen para sintetizar una proteína inactiva que posteriormente debe activarse mediante modificaciones posteriores a la traducción?
14. ¿Qué factores aseguran la exactitud de la síntesis de proteínas? ¿Cómo se compara el nivel de exactitud que normalmente se consigue en la síntesis de proteínas con el de la replicación o la transcripción?
15. ¿Puede sugerir una razón por la que los ribosomas de un ser vivo constan de dos subunidades y no un complejo supramolecular?
16. Describa el mecanismo probable por el que se originó la anemia drepanocítica. ¿Cuál es el fallo específico de la transferencia de la información que se produjo?

Soluciones

CAPÍTULO 1

Preguntas del final del Capítulo
Preguntas de Revisión

1. Entre los muchos descubrimientos que ha proporcionado la investigación bioquímica están que la vida es compleja y dinámica, muy organizada, automantenida y basada en la información. La vida se adapta y evoluciona.
3. Los eucariotas son más grandes y considerablemente más complicados que los procariotas. Todos los organismos multicelulares son eucariotas.
5. Los aminoácidos se encuentran en péptidos y proteínas. Los azúcares se encuentran en oligosacáridos y polisacáridos. Los nucleótidos son los componentes de los ácidos nucleicos. Los ácidos grasos son componentes de varias clases de moléculas lipídicas, por ejemplo, los triacilgliceroles y los fosfolípidos.
7. a. Las funciones de los ácidos grasos son almacenar energía y como componentes de la membrana.
   b. Los azúcares son fuentes de energía y componentes estructurales.
   c. Los nucleótidos participan en las transformaciones energéticas. También son componentes del DNA y del RNA.
9. Las células utilizan las reacciones de oxidación-reducción para interconvertir las formas de energía. La energía se captura al transferirse los electrones desde las moléculas reducidas a otras más oxidadas.
11. Los hidrocarburos saturados sólo contienen enlaces sencillos carbono-carbono, mientras que los compuestos insaturados contienen dobles o triples enlaces carbono-carbono.
13. Cada molécula pertenece a la clase siguiente:
   a. Aminoácido
   b. Azúcar
   c. Ácido graso
   d. Nucleótido
15. Los orgánulos son estructuras subcelulares especializadas que se encuentran en los eucariotas. Permiten la concentración de reactantes y productos en lugares donde pueden utilizarse eficazmente.
17. Ejemplos de las reacciones siguientes son:
   a. Sustitución nucleófila—reacción de la glucosa con ATP para producir glucosa-6-fosfato y ADP.
   b. Eliminación—deshidratación del 2-fosfoglicerato para formar fosfoenolpiruvato.
   c. Oxidación-reducción—conversión de alcohol etílico en acetaldehído.
   d. Adición —conversión de fumarato en malato.
19. Las clases más comunes de reacciones químicas que se encuentran en las células son la sustitución nucleófila, las reacciones de eliminación, las reacciones de adición, las reacciones de isomerización y las reacciones de oxidación-reducción.
21. Además de ser una fuente importante de energía, los hidratos de carbono son moléculas estructurales importantes en los seres vivos y participan en la comunicación intracelular y extracelular.
23. Los nucleótidos participan en reacciones que forman y que generan energía. Gran parte de la energía disponible para impulsar las reacciones bioquímicas se almacena en las moléculas de ATP.
25. Ejemplos de productos de desecho que producen los animales son el dióxido de carbono, el amoníaco, la urea y el agua.
27. La secuencia de bases de nucleótidos de cada clase de molécula de mRNA codifica la secuencia de aminoácidos de un polipéptido específico. Cada molécula de tRNA transporta un aminoácido específico que a continuación entrega al ribosoma para su incorporación en un polipéptido durante la síntesis de proteínas. Las moléculas de RNA ribosómico contribuyen a las propiedades estructurales y funcionales de los ribosomas. Cada polipéptido se fabrica al traducir el ribosoma la información de la secuencia de bases del mRNA. Al producirse el apareamiento de bases entre la secuencia del codón del mRNA y la secuencia del anticodón de las moléculas de tRNA, los aminoácidos se acercan entre ellos para formar el enlace peptídico.

Preguntas de Razonar

1. Aunque las reacciones bioquímicas y las reacciones orgánicas siguen las mismas leyes físicas, la precisión con la que se transforman las biomoléculas en los seres vivos supera las capacidades de los químicos orgánicos. Además, la integración de miles de reacciones bioquímicas dentro de las células es extraordinariamente compleja.
3. Los procariotas son organismos unicelulares más pequeños y menos complicados que los eucariotas, y tienen ciclos vitales más cortos. Los bioquímicos hacen la suposición útil de que los elementos básicos de los procesos vivos en las dos clases de organismos son semejantes. Finalmente, algunos procariotas son más fáciles de obtener, manipular e investigar que los eucariotas multicelulares.
5. Los enlaces C—H de los ácidos grasos son la forma más reducida de carbono que se encuentra en las moléculas orgánicas. La oxidación de estas moléculas para formar dióxido de carbono —la forma más oxidada del carbono— tiene el mayor rendimiento energético.
7. La nueva molécula forma tres enlaces de hidrógeno con la guanina:

2-Amino-6-metoxipurina **Guanina (G)**

9. La insulina producida por biotecnología es insulina humana, al contrario que las formas más viejas que se aislaban del páncreas de bueyes y cerdos. La insulina humana produce una cantidad significativamente menor de reacciones antigénicas y es, por lo tanto, más segura. Además es menos costoso, una vez recuperados los costes de la investigación original y de su desarrollo, el uso de microorganismos modificados genéticamente para producir insulina.

CAPÍTULO 2

Preguntas del Capítulo

2.1. El volumen de una célula procariota se calcula de la siguiente forma:

$$\pi r^2 h = 3.14 \times (0.5\ \mu m)^2 \times 2\ \mu m = 1.57\ \mu m^3$$

El volumen de una célula eucariota se calcula de la siguiente forma:

$$4/3\ \pi r^3 = 4 \times (3.14 \times 10^3)/3 = 4200\ \mu m^3$$

Dividiendo el volumen del hepatocito por el volumen de la célula procariota (4200 μm^3/1.57 μm^3) se obtiene el número de células procariotas que encajarían dentro del hepatocito: 2700.

2.2. Sin una forma de eliminarse, las moléculas lipídicas se acumularían en las células. La función celular queda finalmente afectada y la célula muere.

2.3. La cianobacteria obtiene un entorno estable y un aporte constante de nutrientes. El organismo eucariota se asegura un aporte consistente de energía.

2.4. Véanse las Figuras 2-5 y 2-12.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. La célula es la unidad básica de la vida que está separada de su entorno por una membrana plasmática.
3. Véase la Figura 2-5. Las funciones de los componentes de las células procariotas son:
   a. El nucleoide contiene el cromosoma bacteriano.
   b. El plásmido es el lugar del DNA extracromosómico.
   c. La pared celular proporciona protección y soporte.
   d. Los pili permiten la unión a otras células.
   e. Los flagelos permiten la locomoción.
5. a. Núcleo—eucariotas
   b. Membrana plasmática—eucariotas y procariotas
   c. Retículo endoplásmico—eucariotas
   d. Mitocondria—eucariotas
   e. Nucléolo—eucariotas
7. Los lisosomas digieren todo tipo de biomoléculas. Además del procesamiento normal de las moléculas celulares, los lisosomas destruyen también los componentes de las células extrañas y otros materiales extracelulares exógenos.
9. Las pruebas que apoyan la hipótesis endosimbiótica son las siguientes:
   a. Se ha observado la simbiosis entre los procariotas y los eucariotas actuales.
   b. Las mitocondrias y los cloroplastos son aproximadamente del mismo tamaño que los procariotas.
   c. La capacidad de las mitocondrias y los cloroplastos para sintetizar DNA y proteínas es semejante a la de los procariotas.
   d. Los procariotas, las mitocondrias y los cloroplastos se reproducen por fisión binaria.
   e. Los ribosomas de las mitocondrias y los cloroplastos son de tamaño y función similares a los de los procariotas.
   f. Las trazas de RNA que se encuentran en las otras estructuras celulares eucariotas sugieren que también han surgido por una fusión simbiótica.
11. En los organismos multicelulares como los animales, la unión de las células está impedida por una pared celular. Para algunas células eucariotas, por ejemplo los macrófagos, serían imposibles los cambios impresionantes de forma que se requieren para la función.
13. Entre las funciones de las proteínas de la membrana plasmática están el transporte, la respuesta a los estímulos, el contacto célula-célula y las funciones catalíticas.
15. El aparato de Golgi procesa, clasifica y empaqueta las moléculas proteicas y lipídicas para su distribución a otras regiones de la célula o para la exportación.

Preguntas de Razonar

1. La cubierta mucoide gruesa impide la unión de los anticuerpos a las estructuras de la superficie celular que utiliza el sistema inmunitario para el reconocimiento, interfiriendo de esta manera con la respuesta inmunitaria.
3. El DNA de los eucariotas está contenido dentro del núcleo. La presencia de DNA en las mitocondrias y los cloroplastos es un fuerte argumento a favor de su origen extracelular.
5. La presencia de DNA o posiblemente de RNA en el orgánulo sugiere fuertemente que en un tiempo pudo haber sido de vida libre.
7. El volumen de un ribosoma se calcula de la siguiente forma:

$$\pi r^2 h = 3.14 \times (0.007\ \mu m)^2 \times 0.02\ \mu m = 3.08 \times 10^{-6}\ \mu m^3$$

El volumen de una célula bacteriana (de la pregunta 2.1) es 1.57 μm^3. El número de ribosomas que pueden encajar en una célula bacteriana es $1.57/3 \times 10^{-6} = 5 \times 10^5$, pero debido a que sólo ocupan el 20% del volumen de la célula se divide por 5 para dar 1×10^5 ribosomas por célula bacteriana.

CAPÍTULO 3

Preguntas del Capítulo

3.1. El «hielo» de amoníaco sería menos denso que el amoníaco líquido. Véase en la Figura 3.8 una estructura análoga del agua.

3.2. De izquierda a derecha de la ilustración, las interacciones no covalentes son iónicas, enlaces de hidrógeno e interacciones de van der Waals.

3.3. La ecuación de la presión osmótica M es:

$\pi = iMRT$ donde $\pi = 2.6 \times 10^{-3}$ atm
$i = 1$
$R = 0.0821$ L atm/mol K
$T = 298$ K

Sustituir estos valores en la ecuación y obtener el valor de M.

2.06×10^{-3} atm =
$(1)M$ (0.0821 L atm/mol K)(298 K)

$M = 2.06 \times 10^{-3}$ atm/(0.0821 L atm/mol K)(298 K)
$= 2.06 \times 10^{-3}$ atm/24.4658 L atm/mol
$= 0.000084199$ mol/L

1.5 g/L = 8.4199×10^{-5} mol/L
1 mol = 1.5 g/L/8.4199×10^{-5} mol/L =
17816.84286 = 1.8×10^4 g/mol

3.4. El equilibrio se desplaza hacia la derecha para sustituir al bicarbonato perdido y aumentar la concentración de ácido. La situación resultante se denomina acidosis.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. Tanto c como d son pares ácido-base conjugada.
3. El intervalo eficaz de amortiguamiento es entre 7 y 8.
5. Las moléculas b y d pueden formar enlaces de hidrógeno con moléculas semejantes. Las moléculas a, b y d pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua.
7. En una disolución de lactato sódico 1 M, el agua fluye dentro de la bolsa de diálisis. En disoluciones de lactato sódico 3 M ó 4.5 M, el agua fluye fuera de la bolsa de diálisis.
9. $\pi = iMRT$ donde $\pi = 0.01$ atm
$i = 1$
$R = 0.0821$ L atm/mol K
$T = 298$ K

Resolviendo M:
0.01 atm = (1)(0.0821 L atm/mol K)(298 K)(M)
M = 4.08×10^{-4} mol/L

Resolviendo el peso molecular de la proteína:
0.056 g/0.030 L = 1.867 g/L

1.867 g = 4.08×10^{-4} mol
1 mol de la proteína = 4575.98 g = 4600 g

11. a. Los enlaces de hidrógeno son interacciones electrostáticas entre los hidrógenos unidos covalentemente al oxígeno, al nitrógeno o al azufre, y átomos cercanos de oxígeno, nitrógeno o azufre.
    b. pH = $-\log [H^+]$
    c. Un amortiguador es una mezcla de un ácido débil y su sal que soporta cambios de pH.
    d. La presión osmótica es la presión que se necesita para detener el flujo neto de agua a través de una membrana.
    e. Los osmolitos son sustancias osmóticamente activas que producen las células para restablecer el equilibrio osmótico.
    f. Isotónico se refiere a dos disoluciones con la misma presión osmótica.
    g. Las moléculas anfipáticas contienen grupos polares y apolares
    h. Las interacciones hidrófobas son interacciones entre grupos apolares.
    i. Los dipolos tienen una separación de carga neta dentro de la molécula.
    j. La separación temporal de carga en una molécula producida por un dipolo cercano se denomina dipolo inducido.
13. Las moléculas d pueden formar micelas debido a que cuando se acercan, un extremo de la molécula es polar y el otro es apolar.
15. La capacidad amortiguadora de un sistema aumenta al incrementarse las concentraciones de los componentes del amortiguador pero no al cambiar su cociente.
17. Un amortiguador está formado por un ácido débil y su sal. Sólo c es un amortiguador.
19. La relación entre osmolaridad y molaridad viene dada por la ecuación $o = iM$, en la que o es la osmolaridad, i el grado de ionización y M es la molaridad.
21. $K_a = 6.3 \times 10^{-8}$, por lo tanto, pK_a = 7.2
    pH = pK_a + log [sal]/[ácido]
    7.4 = 7.2 + log [sal]/[ácido]
    log [sal]/[ácido] = 7.4 − 7.2 = 0.2
    [sal]/[ácido] = 1.58:1 ó 1.6:1
23. Debe considerarse la contribución de la ionización del agua. La concentración de ion hidrógeno es 10^{-8} M del ácido y 10^{-7} de agua para una concentración total de ácido de 1.1×10^{-7} M. El pH es por lo tanto igual a $-\log 1.1 \times 10^{-7} = 6.96$.

Preguntas de Razonar

1. La disolución de azúcar muy concentrada tira hacia fuera del agua de cualquier célula bacteriana presente, lo que las destruye, conservando de esta forma la fruta.
3. Las sales disueltas en el agua de mar tiran del agua de las plantas. Esto es lo contrario del flujo normal de agua desde el entorno a la planta. En estas condiciones las plantas morirán.
5. La escala de pH se basa en la constante de ionización del agua. Para establecer la escala de pH para otro disolvente, debería utilizarse la constante de ionización de ese disolvente y la escala de pH sería diferente a la escala de pH del agua.
7. La electronegatividad extrema del oxígeno polariza el enlace O—H del agua y convierte al hidrógeno en deficitario de electrones. Debido a que los pares de electrones sin compartir del oxígeno pueden emplearse para formar enlaces, se produce una interacción electrostática.
9. Las pequeñas moléculas de agua pueden apiñarse alrededor de los iones y dispersar eficazmente la carga facilitando de esta manera la disolución. El grupo R voluminoso del alcohol impide esta interacción estrecha entre el disolvente y el soluto. Como consecuencia de ello el compuesto iónico no se disuelve fácilmente.
11. La hidratación tiende a hacer más fácil la ionización. El grupo ácido hidratado sobre la superficie de la proteína debería tener una K_a mayor que uno situado en el interior anhidro de la proteína.

CAPÍTULO 4

Preguntas del Capítulo

4.1. $\Delta G' = \Delta G^{0\prime} + RT \ln [ADP][P_i]/[ATP]$
donde $R = 8.315 \times 10^{-3}$ kJ/mol·K
$T = 310$ K
[ADP] = 0.00135M, [ATP] = 0.004 M,
[P_i] = 0.00465 M
$\Delta G^{0\prime} = -30.5$ kJ/mol

$\Delta G' = -30.5$ kJ/mol + (8.315 J/mol·K)(310) ln (0.00135 M) (0.00465 M)/(0.004 M)
$\Delta G' = -30.5 + 2.577$ (ln 0.00157)
$= -30.5 - 16.64$
$= -47.14$ kJ/mol = -47.1 kJ/mol

4.2. Cantidad de ATP que se necesita para caminar un kilómetro
= (65 kcal/km)/7.3 kcal/mol
= 8.9 mol/km × 507 g/mol = 4512.3 g/km

Cantidad de glucosa que se necesita para producir 65 kcal a través del ATP
= (65 kcal)/(0.4)(686 kcal/mol)
= 65 kcal/274.4 kcal/mol
= 0.24 mol
= 0.24 mol × 180 g/mol = 43.2 g de glucosa

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La termodinámica es el estudio de las transformaciones del calor y de la energía en una reacción química.
   b. Las reacciones químicas que absorben energía (que tienen una variación de energía libre negativa) son endergónicas.
   c. La entalpía es una medida de la variación de calor de una reacción.
   d. La energía libre es una medida de la tendencia a producirse de una reacción.
   e. Un enlace de energía elevada es un enlace que cuando se rompe libera grandes cantidades de energía libre.
   f. Las reacciones redox son reacciones en las que se producen variaciones del número de oxidación de los reactantes.
   g. Un quimiolitótrofo es un organismo que genera energía química a partir de sustancias minerales.
   h. El potencial de transferencia de grupo fosfato es la tendencia de un enlace fosfato a hidrolizarse; la $\Delta G^{0\prime}$ de la hidrólisis de los compuestos fosforilados.
3. Para que una reacción se produzca en su totalidad la $\Delta G^{0\prime}$ global debe ser negativa y debe existir un intermediario común, en este caso P_i. Esto es así en a y b.
5. ATP + glutamato + NH_3 ⟶ ADP + P_i + glutamina
   ATP + H_2O ⟶ ADP + P_i $\Delta G^{0\prime} = -30.5$ kJ/mol
   Glutamina + H_2O ⟶ glutamato + NH_3
   $\Delta G^{0\prime} = -14.2$ kJ/mol
   Invertir la segunda reacción y sumar los valores de $\Delta G^{0\prime}$.
   ATP + H_2O → ADP + P_i $\Delta G^{0\prime} = -30.5$ kJ/mol
   Glutamato + NH_3 → glutamina + H_2O
   $\Delta G^{0\prime} = +14.2$ kJ/mol
   ATP + glutamato + NH_3 → ADP + P_i + glutamina
   $\Delta G^{0\prime} = -16.3$ kJ/mol

7. En condiciones estándar son ciertas las siguientes afirmaciones: a, e y f.
9. $\Delta G^{0\prime} = -RT \ln K_{eq}$
   $-7100 \text{ j/mol} = -(8.315 \text{ j/mol}\cdot\text{K})(298 \text{ K})(\ln K_{eq})$
   $\ln K_{eq} = 2.865$
   $K_{eq} = 17.56$
11. Las afirmaciones siguientes son verdaderas: a, b, c y f.

Preguntas de Razonar

1. La energía liberada por la hidrólisis de 12.5 mol de ATP es

   $$12.5 \text{ mol } (-30.5 \text{ kJ/mol}) = -381.3 \text{ kJ}$$

   La energía que se requiere para producir 12.5 mol de ATP es 1142.2 kJ. La eficacia aparente del proceso es

   $$(381.3/1142.2) \times 100 = 33.4\,\%$$

3. Aunque sólo participan unas pocas moléculas, aún se obedecen las leyes de la termodinámica.
5. ΔG es el criterio de espontaneidad más útil debido a que refleja la variación de entropía que debe aumentar para que una reacción sea espontánea.
7. Para determinar la $\Delta G'$ de una reacción es necesario conocer la siguiente información: temperatura, concentración de reactantes y productos, y $\Delta G^{0\prime}$.
9. El fosfoenolpiruvato tiene el mayor potencial de transferencia de grupo fosfato. En su hidrólisis, el enol, que tiene una estructura de resonancia restringida, se convierte rápidamente en la forma ceto híbrido de resonancia e impulsa el equilibrio hacia la derecha.
11. La facilidad de la hidrólisis del ATP se explica parcialmente por las repulsiones electrónicas entre los grupos fosfato. El ion magnesio positivo se coordina con estas cargas negativas, reduciendo así su magnitud y por lo tanto la repulsión entre ellas.

CAPÍTULO 5

Preguntas del Capítulo

5.1 Los aminoácidos a y b son neutros, apolares, c es básico y d es un aminoácido ácido.

5.2. Las bacterias con polipéptidos de superficie formados con aminoácidos D son resistentes a la degradación debido a que las proteasas, las enzimas que utilizan las células del sistema inmunitario para degradar las proteínas de las células ajenas, sólo pueden catalizar la hidrólisis de enlaces peptídicos entre aminoácidos L. En otras palabras, los lugares activos de las proteasas son estereoespecíficos, es decir, sólo pueden unir eficazmente los péptidos formados por aminoácidos L.

5.3. El número de tetrapéptidos posibles es $20^4 = 160\,000$.

5.4. La estructura del disulfuro de penicilamina-cisteína es

O ‖ C—OH | H—C—NH2 | H3C—C—S——S—C—H | CH3 … O ‖ C—OH | H—C—NH2 | H

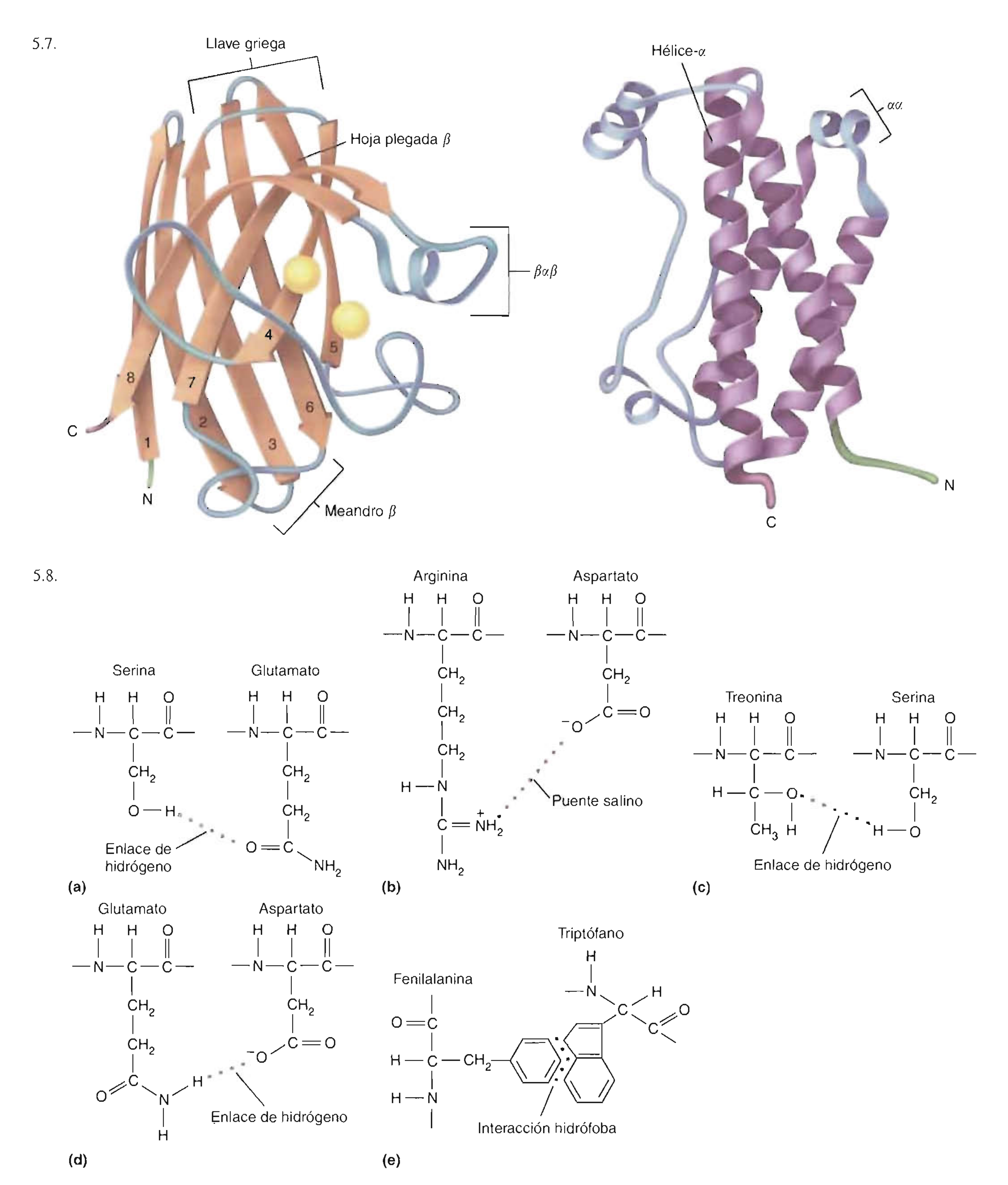
5.5. La estructura completa de la oxitocina es

NH2 O=C CH2 CH2 C H O=C N—H … (estructura de la oxitocina)

A pH 4 el grupo amino terminal de la glicina estará protonado para dar a la molécula una carga +1. El punto isoeléctrico de la oxitocina es 5.6. Por lo tanto, a pH 9 la molécula tendrá una carga neta negativa.

5.6. El rasgo es recesivo y para que la enfermedad se exprese en su totalidad se requieren dos copias del gen aberrante. La primaquina induce la producción de cantidades excesivas del agente oxidante fuerte peróxido de hidrógeno. En ausencia de cantidades suficientes del agente reductor NADPH, las moléculas de peróxido producen un gran daño a la célula. No existe daño a concentraciones superiores a las normales en las células sanguíneas para el parásito del paludismo.

5.7.



5.9. El colágeno es una proteína estructural fundamental del tejido conjuntivo. Por consiguiente, cuando las moléculas de colágeno no se forman adecuadamente estos tejidos se debilitan y se producen diversos síntomas; entre ellos, cataratas, huesos que se deforman con facilidad, rotura de tendones y ligamentos, y fragilidad de los vasos sanguíneos.

5.10. La BPG estabiliza la desoxihemoglobina. En ausencia de BPG, se forma más fácilmente oxihemoglobina. La hemoglobina fetal se une poco al BPG y, por lo tanto, tiene una mayor afinidad por el oxígeno.

5.11. La mioglobina, formada por un único polipéptido, une el oxígeno con un patrón simple—une la molécula fuertemente y la li-

bera sólo cuando la concentración de oxígeno de la célula es muy baja. La unión del oxígeno por la hemoglobina, un tetrámero, tiene un patrón sigmoideo más complicado que es posible gracias a las interacciones no covalentes entre sus cuatro subunidades.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. Un polipéptido es un polímero que contiene más de 50 residuos de aminoácido. Una proteína está formada por una o varias cadenas polipeptídicas. Un péptido es un polímero que contiene menos de 50 residuos de aminoácido.
3. La estructura y la carga neta de la arginina a varios pH es como sigue:

pH	Estructura	Carga neta
1	$H_2N-C(={}^{+}NH_2)-N(H)-CH_2-CH_2-CH_2-C(H)({}^{+}NH_3)-COOH$	+ 2
4	$H_2N-C(={}^{+}NH_2)-N(H)-CH_2CH_2CH_2-CH({}^{+}NH_3)COO^-$	+ 1
7	$H_2N-C(={}^{+}NH_2)-NH-CH_2CH_2CH_2\,CH({}^{+}NH_3)-COO^-$	+ 1
10	$H_2N-C(={}^{+}NH_2)-NH-CH_2CH_2CH_2-CH(NH_2)COO^-$	0
12	$H_2N-C(={}^{+}NH_2)-NHCH_2CH_2CH_2-CH(NH_2)-COO^-$	0

5. El nombre de la molécula es cisteinilgliciltirosina. Su estructura abreviada es H_2N-Cys-Gly-Tyr-COOH.
7. Seis ejemplos de las principales funciones de las proteínas del cuerpo son: catálisis, estructura, movimiento, defensa, regulación y transporte.
9. a. El carbono junto al grupo carboxilo en un aminoácido es el carbono α.
   b. El punto isoeléctrico es el pH al que un aminoácido es eléctricamente neutro.
   c. Un enlace peptídico es un enlace amida entre dos aminoácidos.
   d. Un aminoácido hidrófobo es un aminoácido con un grupo lateral apolar.
11. a. Poliprolina —hélice a izquierdas
    b. Poliglicina —hoja plegada β
    c. Ala-Val-Ala-Val-Ala-Val —hélice α
    d. Gly-Ser-Gly-Ala-Gl-Ala —hoja plegada β
13. a. Calor—Enlace de hidrógeno (estructuras secundaria y terciaria).
    b. Ácido fuerte—enlaces de hidrógeno (estructuras secundaria y terciara) y puentes salinos (estructuras secundaria y terciaria)
    c. Disolución salina saturada—puentes salinos (estructura terciaria).
    d. Disolventes orgánicos—interacciones hidrófobas (estructura terciaria).
15. Véase en Métodos Bioquímicos 5.1 (pág. 152) las técnicas de purificación de proteínas.
17. Véase en las págs. 152-153 la exposición de las técnicas cromatográficas de separación.
19. Con fragmentos solapantes, los segmentos pueden ajustarse debido a que los fragmentos que encajan tienen secuencias comunes en sus extremos. Si los segmentos no son solapantes, no puede determinarse su orden.
21. a. El punto isoeléctrico se calcula con el promedio de los valores de pK_a del grupo amino de la glicina (9.6) y el grupo carboxilo de la valina (2.32). La respuesta es pI = 5.96.
    b. A pH 1, el tripéptido está cargado positivamente y se moverá hacia el electrodo negativo. A pH 5, el tripéptido tiene una carga neta cero y no se moverá. A pH 10 y 12, el tripéptido tiene una carga −1 y se mueve hacia el electrodo positivo.

Preguntas de Razonar

1. Los aminoácidos hidrófobos como valina, leucina, isoleucina, metionina y fenilalanina normalmente se encuentran dentro del centro anhidro de la proteína debido al efecto hidrófobo. Los aminoácidos hidrófilos, como arginina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico suelen encontrarse en la superficie de las proteínas o en sus cercanías, donde interaccionan con las moléculas de agua. La glicina y la alanina son aminoácidos hidrófobos y así tienden a encontrarse en el interior de las proteínas. La glutamina tiene una cadena lateral polar que puede formar enlaces de hidrógeno y, por lo tanto, suele encontrarse en la superficie de las proteínas.
3. El gran tamaño de las enzimas es necesario para estabilizar la forma y las propiedades funcionales del lugar activo y protegerlo de las moléculas extrañas. Además, las características estructurales de la proteína pueden participar en los procesos de reconocimiento, en la señalización o en la unión a las estructuras celulares.
5. El enlace amida es más fuerte que el enlace éster por dos razones. El N tiene un tamaño más parecido al del C que al del O, lo que proporciona una mayor covalencia al enlace. También, debido a que el O y el N se diferencian en la electronegatividad, en el enlace amida hay hibridación de resonancia. Por lo tanto, el enlace amida tiene un carácter parcial de doble enlace.
7. La enzima no rompe fácilmente los enlaces peptídicos sobre la superficie de la quimotripsina.

CAPÍTULO 6

Preguntas del Capítulo

6.1. Los residuos de aminoácido que forman la estructura tridimensional del lugar activo son quirales. Como consecuencia de esto, el lugar activo es quiral y sólo puede unir una forma isómera de un azúcar hexosa, en este caso el isómero D.

6.2. a. Isomerasa
   b. Transferasa
   c. Liasa
   d. Oxidorreductasa
   e. Ligasa
   f. Hidrolasa

6.3. Los productos de la degradación son los siguientes compuestos:

Metanol	Fenilalanina	Ácido aspártico
CH_3OH	$H_2N-CH(CH_2C_6H_5)-C(=O)-OH$	$H_2N-C(H)(CH_2-C(=O)-OH)-C(=O)-OH$

La ruptura del enlace éster está catalizada por una esterasa; el enlace amida se fragmenta por una peptidasa.

6.4.

$$\text{Enzima}-SH + I-CH_2-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-NH_2 \longrightarrow \text{Enzima}-S-CH_2-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-NH_2$$

6.5. La diálisis elimina el formaldehído, el ácido fórmico y el metanol que se forman en el torrente sanguíneo. El bicarbonato neutraliza el ácido producido y ayuda a compensar la acidosis resultante. El etanol se une de forma competitiva a la alcohol deshidrogenasa, lo cual lentifica la deshidrogenación del metanol y da tiempo a que los riñones lo eliminen.

6.6. Los aminoácidos ácidos ácido aspártico y ácido glutámico y los aminoácidos básicos lisina, arginina e histidina pueden actuar como ácidos generales o bases generales, respectivamente. Además, los aminoácidos con grupos OH o SH pueden actuar como ácidos débiles. Sin embargo, el único aminoácido con un pK_a en el intervalo neutro de los sistemas fisiológicos es la histidina. En presencia de agua, es el único aminoácido que puede participar en la transferencia de protones. En los lugares activos y los bolsillos de las proteínas con deficiencia de agua, las condiciones pueden desplazar los pK_a de otros aminoácidos (como el glutamato) hacia un pH en el que sea posible la transferencia de protones.

6.7. a. Síndrome de Menkes—las inyecciones de sales de cobre en la sangre pueden impedir la malabsorción intestinal y proporcionar el cobre necesario para formar cantidades adecuadas de ceruloplasmina y neutralizar los síntomas de la enfermedad.
b. Enfermedad de Wilson—el zinc induce la síntesis de metalotioneína, que tiene una elevada afinidad por el cobre. Parte del daño orgánico puede invertirse debido a que la tioneína secuestra al cobre y evita que este metal tóxico se una e inactive las proteínas y las enzimas susceptibles. La penicilamina forma un complejo con el cobre en la sangre. Este complejo se transporta a los riñones donde se elimina.

6.8. a. Cofactor
b. Holoenzima
c. Apoenzima
d. Coenzima
e. Coenzima

6.9. El paciente que no experimenta una mejora, probablemente tiene una mayor cantidad de enzimas acetilantes. La dosis del paciente debe basarse en la capacidad para procesar el fármaco y no en el peso corporal.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La energía de activación es la energía mínima que se requiere para llevar a cabo la reacción.
b. Un catalizador es una sustancia que altera la velocidad de una reacción y que no se consume en ella.
c. El lugar activo es la parte de la enzima responsable directa de la catálisis.
d. Una coenzima es una molécula pequeña necesaria para capacitar la función de la enzima.
e. La velocidad de una reacción química es la variación de la concentración de un reactante con el tiempo.
f. La semivida es el tiempo necesario para que se consuma la mitad de las moléculas de reactante.
g. El número de recambio es el número de moles de sustrato que se convierten por segundo y por mol de enzima.
h. Un katal es la cantidad de enzima que transforma 1 mol de sustrato por segundo. Un katal es igual a 6×10^7 UI.
i. Un inhibidor no competitivo es una molécula inhibidora que se une a una enzima, pero no en el lugar activo.
j. La represión es el impedimento de la síntesis de un polipéptido.

3. Las células regulan las reacciones enzimáticas utilizando el control genético (se sintetizan determinadas enzimas clave en respuesta a la variación de las necesidades metabólicas), la modificación covalente (determinadas enzimas se regulan por la interconversión reversible entre sus formas activa e inactiva, un proceso en el que se producen cambios covalentes de la estructura), la regulación alostérica (la unión de moléculas efectoras a enzimas marcapasos altera la actividad catalítica), y la compartimentalización (que evita los «ciclos inútiles» mediante la separación física de los procesos bioquímicos opuestos dentro de las células).

5. Los factores que contribuyen a la catálisis enzimática son: efectos de proximidad y tensión, efectos electrostáticos, catálisis acidobásica y catálisis covalente. Véase en las págs. 177-180 una explicación de cada uno de ellos.

7. La retroinhibición negativa es un proceso en el que el producto de una ruta inhibe la actividad de la enzima marcapasos.

9. Véase el Cuadro 6-3.

11. La energía de activación de la reacción de la glucosa con el oxígeno molecular es bastante elevada y, por consiguiente, la reacción se produce de una forma relativamente lenta.

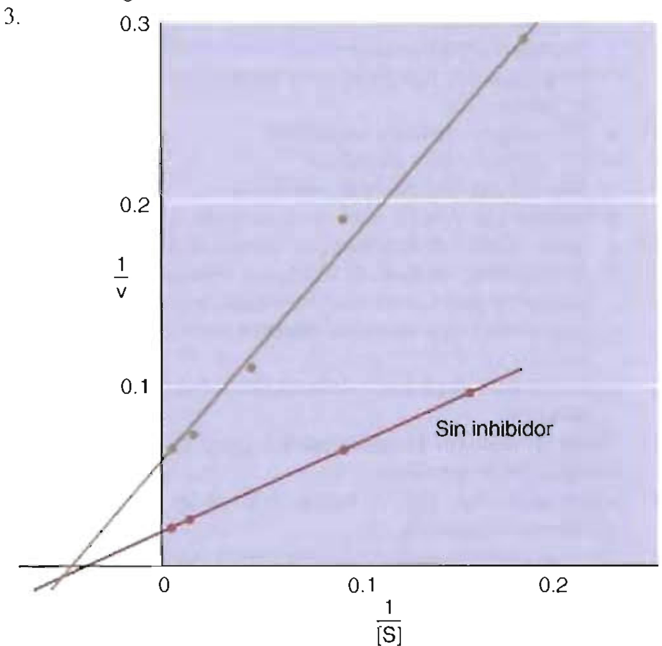
13. Al comienzo de la reacción pueden conocerse con precisión las concentraciones de los reactantes y los productos. Debido a que aún no se ha establecido el equilibrio, presumiblemente sólo tiene lugar la reacción en sentido directo.

15. Los residuos de aminoácido que forman el lugar activo son estereoisómeros. Por consiguiente, el lugar activo es quiral y sólo puede unir una de las formas de un compuesto ópticamente activo.

Preguntas de Razonar

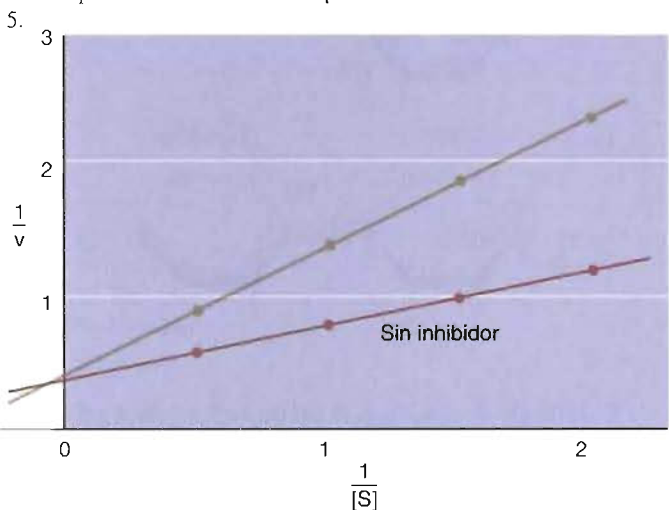
1. Los datos indican que la reacción es de primer orden con relación al piruvato y al ADP, y de segundo orden con relación al P_i. La reacción global es de cuarto orden.

3.



La intersección con el eje horizontal es $^{-1}/K_m$ la intersección con el eje vertical es $^{1}/V_{máx}$. La pendiente es $K_m/V_{máx}$. EL tipo de inhibición que se observa es no competitivo.

5.



La inhibición es competitiva.

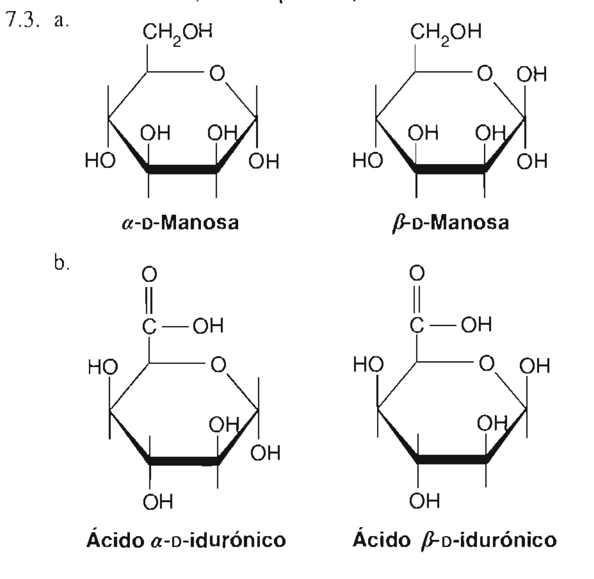
7. Véase la Figura 6-19.
8. La inhibición es competitiva.

CAPÍTULO 7

Preguntas del Capítulo

7.1. a. Aldotetrosa, b. Cetopentosa, c. Cetohexosa.

7.3. a.



α-D-Manosa β-D-Manosa

b.

Ácido α-D-idurónico Ácido β-D-idurónico

c.

α-D-Fructofuranosa β-D-Fructofuranosa

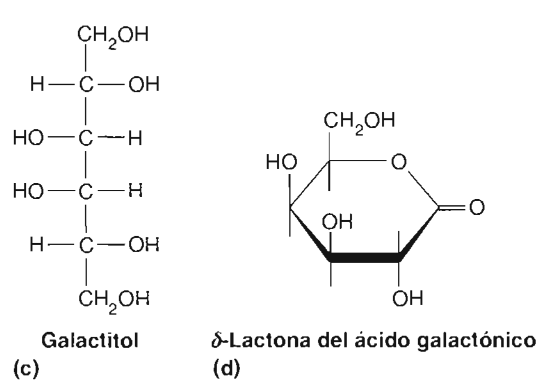
7.4.

α-D-Galactosa β-D-Galactosa

(a)

Ácido aldónico Ácido aldárico Ácido urónico

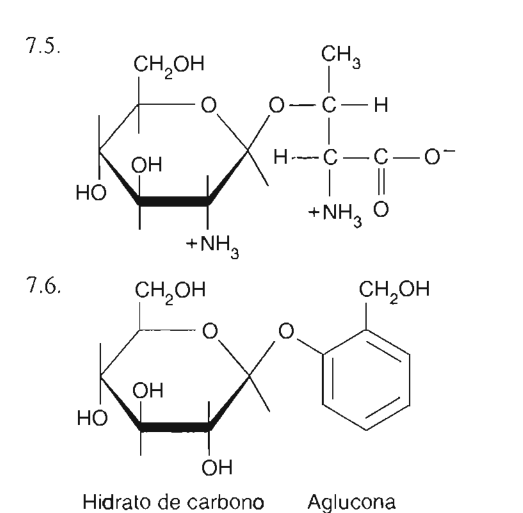
(b)



Galactitol δ-Lactona del ácido galactónico

(c) (d)

7.5.



Hidrato de carbono Aglucona

7.7. a. Glucosa—azúcar reductor
b. Fructosa—azúcar reductor
c. α-metil-D-glucósido—no reductor
d. Sacarosa—no reductor

Los azúcares a y b son capaces de mutarrotación.

7.8. Las moléculas de glucógeno insoluble más grandes contribuyen poco a la presión osmótica de la célula. Por el contrario, cada molécula de un número equivalente de moléculas de glucosa contribuye a la presión osmótica. Si las moléculas de glucosa no estuvieran ligadas para formar glucógeno, la célula estallaría.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a.

α-D-Glucopiranosa

β-D-Glucofuranosa

b.

c.

d.

R = H—C—OH / H—C—OH / CH_2OH

e.

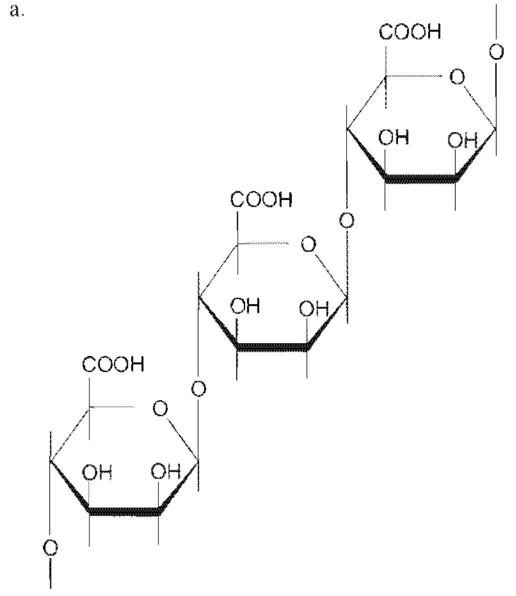
f.

3. En la familia de azúcares D, el OH del carbono quiral más alejado de los grupos carbonilo se encuentra en el lado derecho en una fórmula de proyección de Fischer. Así, la (+)glucosa y la (−)fructosa son azúcares D a pesar de su rotación de la luz polarizada plana en direcciones opuestas.
5. Los heteropolisacáridos están formados por más de una clase de residuo de monosacárido pero los homopolisacáridos sólo tienen una. Ejemplos de homopolisacáridos y heteropolisacáridos son el almidón y el ácido hialurónico, respectivamente.
7. a. No reductor, b. No reductor, c. Reductor, d. No reductor, e. Reductor.
9. Las cadenas de hidratos de carbono formadas por azúcares unidos por enlaces glucosídicos α(1,4) se enrollan en una hélice α.
11. a. Glucosa, glucosa y fructosa
    b. Es costumbre ir de izquierda a derecha en el proceso de numeración. Por lo tanto, el enlace entre las dos moléculas de glucosa es α, y el enlace entre la glucosa y la fructosa es también α. Este último enlace se denomina α1β2.
    c. La rafinosa es un azúcar no reductor.
    d. La rafinosa no es capaz de mutarrotación.
13. a. Los grupos ácido carboxílico e hidroxilo unen grandes cantidades de agua.
    b. El enlace de hidrógeno es la clase primaria de enlace entre el agua y los glucosaminoglucanos.
15. El condroitín sulfato y los proteoglucanos a pH fisiológico poseen un gran número de cargas negativas, y como tal están muy extendidos, uniendo cantidades grandes de agua. Las cadenas entrecruzadas bloquean el paso de las moléculas grandes. Las moléculas más pequeñas pueden pasar entre las cadenas.
17. Los proteoglucanos son moléculas muy grandes que contienen un gran número de cadenas de glucosaminoglucanos unidas a una proteína central. Se encuentran principalmente en los líquidos extracelulares, donde su elevado contenido de hidratos de carbono les permite unir cantidades grandes de agua. Las glucoproteínas son proteínas conjugadas en las que los grupos prostéticos son moléculas de hidratos de carbono. Los grupos hidratos de carbono estabilizan la molécula mediante enlaces de hidrógeno, protegiendo a la molécula de la desnaturalización o escudando a la proteína de la hidrólisis. Los grupos hidratos de carbono en las glucoproteínas sobre la superficie de las células participan de forma importante en diversos fenómenos de reconocimiento.
19. La amilosa, el glucógeno y la amilopectina poseen polímeros de residuos de glucosa que están unidos por enlaces glucosídicos α-1,4. El glucógeno y la amilopectina poseen también ramas que están conectadas a la cadena ligada por α-1,4 mediante enlaces glucosídicos α-1,6. La celulosa es un polímero sin ramificar de residuos de glucosa ligados por enlaces β-1,4.

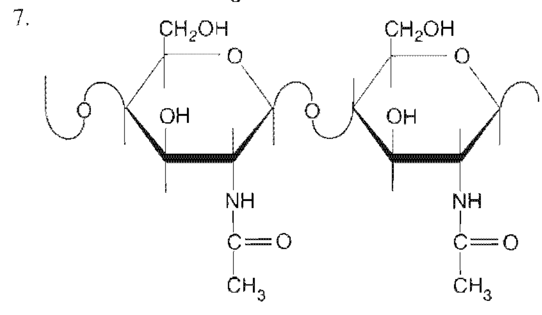
Preguntas de Razonar

1.

3. La cubierta gruesa de proteoglucano protege a las bacterias evitando la unión de anticuerpos a sus antígenos de superficie.
5. a.



   b. El polímero inmoviliza al agua mediante un gran número de enlaces de hidrógeno.
7.



CAPÍTULO 8

Preguntas del Capítulo

8.1. La gran cantidad de NADH que producen estas reacciones impulsa la conversión del piruvato en lactato.

8.2. El cromo está actuando como cofactor.

8.3. En ausencia de O_2, la energía sólo se produce mediante la gucólisis, un proceso anaerobio. La glucólisis produce menos energía por molécula de glucosa que la respiración aerobia. Por consiguiente, para cubrir las necesidades energéticas de la célula deben metabolizarse más moléculas de glucosa. Cuando está presente el O_2, se reduce el flujo de glucosa a través de la glucólisis.

8.4. En tres puntos estratégicos, las reacciones glucolíticas y gluconeogénicas están catalizadas por tres enzimas diferentes. Por ejemplo, la fosfofructoquinasa y la fructosa-1,6-difosfatasa catalizan las reacciones opuestas. Si se producen ambas reacciones de forma simultánea (en un ciclo inútil) en un grado significativo, la hidrólisis del ATP en la reacción catalizada por la fosfofructoquinasa libera grandes cantidades de calor. Si no se disipa rápidamente el calor, una persona afectada moriría de hipertermia.

8.5. En la gluconeogénesis, el piruvato se convierte en oxalacetato. Se requieren NADH y H^+ para reducir el glicerato 1,3-bisfosfato a gliceraldehído-3-fosfato. El NAD^+ es la forma oxidada del NADH que también se produce en esta reacción. Se necesita ATP para proporcionar la energía para carboxilar el piruvato a oxalacetato y fosforilar el gliceraldehído-3-fosfato a glicerato-1,3-bisfosfato. Ambas reacciones producen también ADP y P_i. El GTP convierte el oxalacetato en fosfoenolpiruvato. Esta reacción también es la fuente de GDP y P_i. El agua participa en las reacciones de hidrólisis del ATP a ADP y P_i, la conversión del fosfoenolpiruvato en 2-fosfoglicerato y la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato en glucosa. Cuando se hidrolizan cuatro moléculas de ATP y dos moléculas de GTP se forman seis protones.

8.6. Sin la actividad glucosa-6-fosfatasa, la persona no puede liberar glucosa a la sangre. La concentración sanguínea de glucosa debe mantenerse mediante el consumo frecuente de hidratos de carbono. El exceso de glucosa-6-fosfato se convierte en piruvato, el cual se reduce posteriormente por el NADH para formar lactato.

8.7. Las deficiencias enzimáticas impiden la degradación del glucógeno. Debido a que las enzimas de síntesis son activas, continúa produciéndose parte del glucógeno lo que hace que el hígado se agrande. Debido al papel estratégico del hígado en el mantenimiento de la glucosa sanguínea, una enzima desramificante defectuosa produce hipoglucemia.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. La fosforilación de la glucosa tras su entrada en las células impide la salida de la molécula de la célula y facilita su unión a los lugares activos de las enzimas.
3. La ribosa-5-fosfato es una aldopentosa con un grupo fosfato en el quinto carbono. La ribulosa-5-fosfato es una cetosa con un carbonilo en el carbono 2 y un grupo fosfato en el quinto carbono.
5. En la glucólisis, los sustratos de entrada son los azúcares y el producto es el piruvato. Los fines principales del proceso son proporcionar a la célula energía y varios intermediarios metabólicos. Los sustratos de la gluconeogénesis son piruvato, lactato, glicerol y varios aminoácidos o α-cetoácidos. La gluconeogénesis proporciona glucosa al organismo cuando las concentraciones sanguíneas de glucosa son bajas.
7. Estos organismos utilizan etanol como aceptor de hidrógeno, haciendo así posible el reciclado del NAD^+.
9. La adrenalina estimula la conversión de glucógeno en glucosa al activar la adenilato ciclasa, una enzima cuyo producto, el cAMP, inicia una cascada de reacciones que activan la enzima de degradación del glucógeno glucógeno fosforilasa.
11. a. Lactato—estimula la gluconeogénesis
    b. ATP—estimula la gluconeogénesis
    c. Piruvato—estimula la gluconeogénesis
    d. Glicerol—estimula la gluconeogénesis
    e. AMP—inhibe la gluconeogénesis
    f. Acetil-CoA—estimula la gluconeogénesis

Preguntas de Razonar

1. En una persona así, tras una comida con hidratos de carbono la concentración sanguínea de glucosa sería superior a lo normal. Recuérdese que las propiedades cinéticas de la hexoquinasa D permiten al hígado eliminar el exceso de glucosa de la sangre. El músculo esquelético acumularía algún glucógeno adicional, pero la mayoría de la glucosa en exceso se utilizaría para sintetizar triacilgliceroles en los adipocitos, un proceso que estimula la insulina. Una cantidad significativa del glucógeno hepático se sintetiza a partir de la glucosa producida por gluconeogénesis.
3. En el hígado, la fructosa se metaboliza más rápidamente que la glucosa debido a que su metabolismo evita dos pasos reguladores de la ruta glucolítica: la conversión de glucosa en glucosa-6-fosfato, y de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato. Recuérdese que la fructosa-1-fosfato se desdobla en glciceraldehído y DHAP, que a continuación se convierten en gliceraldehído-3-fosfato.
5. Dos agentes oxidantes comunes del metabolismo anaerobio son el NAD^+ y el $NADP^-$.
7. El etanol es la molécula más reducida y el acetato es la más oxidada. El grado de oxidación de una molécula orgánica puede relacionarse con su contenido de oxígeno, es decir, el acetato tiene más oxígeno que el etanol.

CAPÍTULO 9

Preguntas del Capítulo

9.1. Con un valor de ΔE_0'de -0.345 V, la oxidación del NO_2^- tal y como está escrita es espontánea. La oxidación del etanol no es espontánea como está escrita debido a que su valor de ΔE_0'es positivo (+0.275 V).

9.2. Las reacciones 3, 4 y 5 son reacciones redox. En la reacción 3, el lactato es el agente reductor y el NAD^+ es el agente oxidante. En la reacción 4, el cit b (Fe^{2+}) es el agente reductor y el NO_2^- el agente oxidante. En la reacción 5, el NADH es el agente reductor y el CH_3CHO es el agente oxidante.

9.3. Los estados de oxidación del carbono grupo funcional (indicado) son:

CH_3CH_2OH	$0 - 1 - 1 + 1 = -1$
CH_3CHO	$0 - 1 + 2 = +1$
CH_3COOH	$0 + 1 + 2 = +3$

9.4. Al incorporarse a una molécula orgánica, el átomo de carbono del CO_2 se reduce.

9.5. Debido a su estructura simétrica, una molécula de succinato procedente de una acetil-CoA marcada con ^{14}C se convierte en dos formas de oxalacetato, una con un grupo metileno marcado y otra con un grupo carbonilo marcado. El CO_2 marcado con ^{14}C no se libera hasta la tercera vuelta, cuando la mitad del carbono original marcado se ha perdido (el grupo carbonilo procedente de la acetil-CoA). El carbono marcado posteriormente se mezcla cuando la succinil-CoA se convierte en succinato durante la tercera y la cuarta vueltas del ciclo.

9.6. La piruvato descarboxilasa convierte el piruvato en oxalacetato. Si la enzima es inactiva, aumentan las concentraciones de piruvato del sistema y el piruvato se convierte por el NADH en lactato. El exceso de lactato se elimina por la orina.

9.7. El fluoroacetato se convierte en fluoroacetil-CoA. Esta sustancia a continuación reacciona con el oxalacetato para producir fluorocitrato. Éste es tóxico debido a que inhibe a la aconitasa, la enzima que normalmente convierte el citrato en isocitrato, de ahí la formación de citrato. En los vegetales, el fluoroacetato se almacena en vacuolas lejos de las mitocondrias.

Preguntas del final del Capítulo

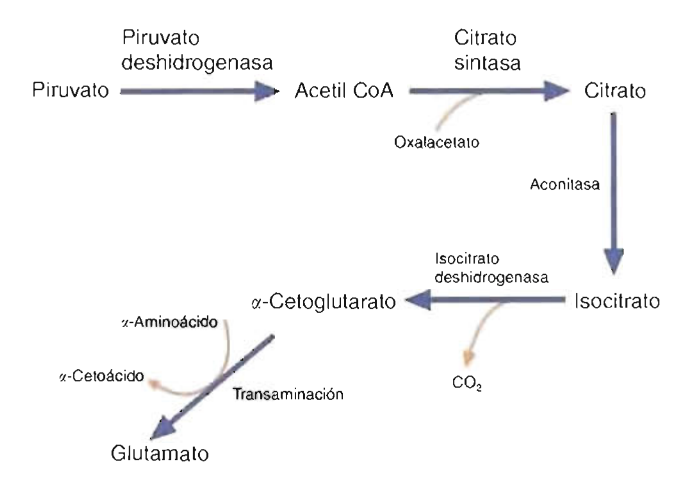
Preguntas de Revisión

1. a. Los anaerobios tolerantes al aire son organismos que crecen sin utilizar el oxígeno en la generación de energía.
   b. Las reacciones anapleróticas reponen los sustratos que se han utilizado en los procesos de biosíntesis.
   c. Los glioxisomas son orgánulos de los vegetales que poseen enzimas del ciclo del glioxilato.
   d. El potencial de reducción es la tendencia de una sustancia específica a perder electrones.
   e. Un donador de electrones y su aceptor son pares redox conjugados.
   f. La coenzima A es una molécula transportadora de acilo.
   g. Anfibólicas son rutas que pueden ir en ambos procesos anabólicos y catabólicos.
   h. La aciduria láctica es un estado fisiológico en el que en la orina se encuentra ácido láctico.
   i. La carcinogenia es el proceso por el que las células se hacen genéticamente inestables y finalmente cancerosas.
   j. La glucólisis aerobia es un proceso que tiene lugar en los tumores en los que las células obtienen la energía requerida para impulsar sus rápidas divisiones celulares por un metabolismo mixto con una tasa elevada de glucólisis y algo de fosforilación oxidativa.
3. a. Los anaerobios estrictos son organismos que no sólo no utilizan oxígeno para generar energía, sino que viven en ambientes reducidos sin oxígeno.
   b. Los anaerobios tolerantes al aire son organismos que generan la energía por fermentación, pero pueden vivir con oxígeno debido a que son capaces de autoprotegerse de los efectos tóxicos del oxígeno.
   c. Los anaerobios facultativos son organismos que, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno, pueden generar energía por fermentación o respiración aerobia.
   d. Los aerobios estrictos son organismos que requieren una fuente continua de oxígeno para generar energía.
5. El ciclo del ácido cítrico es un componente importante de la respiración aerobia. El NADH y el $FADH_2$ producido durante las reacciones de oxidación-reducción del ciclo ceden electrones a la CTE mitocondrial. Los intermediarios del ciclo del ácido cítrico también se utilizan como precursores de biosíntesis.
7. El ciclo del glioxilato es una versión modificada del ciclo del ácido cítrico que permite a determinados organismos (p. ej., vegetales y algunos microorganismos) crecer utilizando moléculas de dos carbonos como la acetil-CoA, el acetato o el etanol. El ciclo del glioxilato permite la síntesis neta de moléculas más grandes a partir de moléculas de dos carbonos debido a que se evitan dos reacciones de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico.
9. La molécula superior es FMN; la molécula inferior es $FMNH_2$.

Preguntas de Razonar

1. En la fosforilación a nivel de sustrato, el ADP se convierte en ATP por la transferencia directa de un grupo fosforilo desde un compuesto de energía elevada. La única reacción del ciclo del ácido cítrico que comporta este tipo de reacción es la rotura de la succinil-CoA para formar succinato, CoASH y GTP. Otro ejemplo de una fosforilación a nivel de sustrato es la reacción glucolítica, que convierte el fosfoenolpiruvato y el ADP en piruvato y ATP.

3. La biosíntesis de glutamato a partir de piruvato se presenta más abajo:



5. a. $NADH + H^+ + 1/2\ O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O\ \Delta E_0' = +1.14$ V
$\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E_0'$
$= (-2)(96{,}485$ J/V · mol$)(+1.14$ V$)$
$= -219{,}985.8$ J/mol
$= -220$ kJ/mol
b. Cit $c(Fe^{2+}) + 1/2\ O_2 \longrightarrow$ Cit $c(Fe^{3+}) + H_2O\ \Delta E_0' = 0.58$V
$\Delta G^{0\prime} = (-2)(96{,}485$ J/V · mol$)(+0.58$V$)$
$= -112$ kJ/mol

CAPÍTULO 10

Preguntas del Capítulo

10.1. a. NADH
b. $FADH_2$
c. Cit c (reducido)
d. NADH
e. NADH

10.2. El DNP es una molécula lipófila que se une reversiblemente con los protones. Disipa ese gradiente de protones en las mitocondrias transfiriendo los protones a través de la membrana interna. El desacoplamiento del transporte electrónico de la fosforilación oxidativa hace que la energía de los alimentos se disipe como calor. El DNP produce insuficiencia hepática debido a una síntesis insuficiente de ATP en un órgano metabólicamente exigente.

10.3. No, para que se produzca la síntesis de ATP, la concentración de protones debe ser superior dentro de la parte externa de las partículas mitocondriales. La síntesis de ATP requiere que los protones se muevan a favor de un gradiente de concentración por la base de la ATP sintasa a través de la membrana.

10.4. Con independencia de la pérdida de protones y suponiendo que actúa la lanzadera del glicerol fosfato, se producirán 38 ATP en la oxidación aerobia de una molécula de glucosa. Si actúa la lanzadera del malato, sólo se producirán 36 ATP.

10.5. La sacarosa es un disacárico formado por glucosa y fructosa. Como se ha descrito antes (pág. 318), la oxidación de 1 mol de glucosa proporciona un máximo de 31 moles de ATP. La fructosa, que como la glucosa también se degrada parcialmente por la ruta glucolítica, también proporciona un máximo de 31 moles de ATP. El rendimiento total máximo de energía es de 62 moles de ATP por mol de sacarosa.

10.6. Los átomos de selenio más grandes mantienen sus electrones con menor fuerza que el azufre. El selenio se oxida más fácilmente y por lo tanto actúa como un mejor eliminador de oxígeno que el azufre.

10.7. Los grupos SH reducen al peróxido de hidrógeno o atrapan los radicales hidroxilo para formar agua. Un ejemplo de una molécula que no contiene un grupo sulfhidrilo que debería ser capaz de esta actividad es la vitamina C o cualquiera de los otros antioxidantes (carotenoides, flavonoides, tocoferoles, etc.).

10.8. Las bajas concentraciones de G-6-PD junto con una concentración elevada de GSH oxidado producen una agresión oxidativa. Sin la protección de los antioxidantes, las membranas de los eritrocitos se harían frágiles, una situación que finalmente produciría anemia hemolítica.

10.9. Los grupos fenólicos de ambas moléculas son responsables de su actividad antioxidante debido a la facilidad de formación de radicales fenoxi con la neutralización consiguiente de las ROS con deficiencia de electrones.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La hipótesis del acoplamiento químico postula que el intermediario de energía elevada que se genera por el transporte electrónico se utiliza para impulsar la síntesis de ATP.
b. La teoría del acoplamiento quimiosmótico postula que el gradiente de protones que se crea por el sistema de transporte electrónico mitocondrial impulsa la síntesis de ATP.
c. Un ionóforo es una molécula hidrófoba que se inserta en una membrana y disipa los gradientes osmóticos.
d. El control respiratorio es la regulación de la respiración aerobia por el ADP
e. La isquemia es un flujo sanguíneo inadecuado.
f. La respiración aerobia es el proceso generador de energía que utiliza el O_2 como aceptor electrónico terminal.
g. Un radical es una especie química con un electrón desapareado.
h. La biotransformación es un conjunto de procesos catalizados por enzimas en los que las moléculas hidrófobas, habitualmente tóxicas, se convierten en productos más solubles y habitualmente menos tóxicos.
i. Un epóxido es un anillo de tres miembros que contiene un oxígeno.
j. La fuerza protón-motriz es la fuerza que se origina de un gradiente de protones y un potencial de membrana.
k. Un gradiente de protones es la diferencia de concentración de protones a través de una membrana.
l. Un desacoplador es una molécula que desacopla la síntesis de ATP del transporte electrónico; colapsan los gradientes de protones al transportar los protones a través de una membrana.
m. Las ROS son especies de oxígeno activas; derivados reactivos del oxígeno molecular.

3. Los procesos que se cree son impulsados por el transporte electrónico mitocondrial son la síntesis de ATP, el bombeo de los iones calcio al interior de la matriz mitocondrial y la generación de calor por la grasa parda.

5. De acuerdo con la teoría quimiosmótica, para mantener el gradiente de protones que se necesita para la síntesis de ATP se requiere una membrana mitocondrial interna intacta.

7. Para impulsar la síntesis de ATP se requiere la translocación de tres protones. El cuarto protón impulsa el transporte de ADP y P_i.

9. Los ejemplos c, d y f son todos especies de oxígeno reactivas. Cada una de estas especies puede actuar como un radical libre, es decir, puede atacar varios componentes celulares produciendo efectos como la inactivación enzimática, la despolimerización de los polisacáridos y la destrucción de las membranas.

11. Las principales defensas enzimáticas contra la agresión oxidativa las proporcionan la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa.

Preguntas de Razonar

1. Una vez que una molécula de acetato marcada se convierte en acetil-CoA se procesa a través del ciclo del ácido cítrico (Fig. 9-5). Debido a la estructura simétrica del intermediario succinato, no se libera $^{14}CO_2$ hasta dos o más vueltas del ciclo. El número de moles de ATP que se producen a partir de 1 mol de acetato se calcula como sigue. Cada vuelta del ciclo produce 10 ATP. Suponiendo que la liberación de $^{14}CO_2$ requiere dos vueltas del ciclo, se generan un total de 20 ATP. Debido a que se requieren 2 ATP para convertir el acetato en acetil-CoA, la producción neta de ATP es de 18 moles.
3. La glutamina se convierte fácilmente en glutamato que entra en el ciclo del ácido cítrico como α-cetoglutarato. La primera vuelta del ciclo libera un CO_2 y produce 2 NADH, 1 $FADH_2$ y 1 ATP. El producto de cuatro carbonos se consume en las dos vueltas posteriores del ciclo, cada una de las cuales genera 3 NADH, 1 $FADH_2$ y 1 ATP. El rendimiento total es 8 NADH, 3 $FADH_2$ y 3 ATP. Suponiendo que cada NADH proporciona 2.5 ATP y cada $FADH_2$ proporciona 1.5 ATP, se genera una suma total de 27.5 moles de ATP.

CAPÍTULO 11

Preguntas del Capítulo

11.1. El producto de la hidrogenación total sería duro y por lo tanto no adecuado como margarina.

11.2. Cuando se mezclan el jabón y la grasa, las colas hidrófobas del hidrocarburo del jabón se insertan (o disuelven) en las gotas de aceite. Las gotas de aceite se recubren con las moléculas de jabón. Las porciones hidrófilas de las moléculas de jabón permiten que los complejos jabón-aceite se dispersen en el agua.

11.3. El fosfolípido del tensioactivo, que posee un grupo de cabeza polar y dos grupos acilo hidrófobos, rompe parte de los enlaces de hidrógeno intermoleculares del agua disminuyendo de esta forma la tensión superficial.

11.4. El carvone y el alcanfor son monoterpenos; el ácido abcísico es un sesquiterpeno.

11.5. Las sales biliares son estructuralmente semejantes al jabón en que contienen un grupo de cabeza polar (p. ej., el residuo de aminoácido de glicina cargado) y una cola hidrófoba (el sistema de anillo esteroide).

11.6. a. Difusión simple
b. Transporte activo secundario a difusión facilitada
c. Transporte activo primario o proteína intercambiadora
d. Transporte activo primario o canal con puertas
e. Las moléculas de grasa (triacilgliceroles) no se transportan directamente a través de las membranas celulares. Deben hidrolizarse previamente.
f. Difusión simple.

11.7. La principal característica estabilizadora de las membranas biológicas son las interacciones hidrófobas entre las moléculas en la bicapa lipídica. Los fosfolípidos de la bicapa lipídica se orientan de forma que sus grupos de cabeza polares interactúen con el agua. Las proteínas en la bicapa lipídica interaccionan favorablemente en su medio hidrófobo debido a que generalmente tienen residuos de aminoácido hidrófobos en sus superficies externas.

11.8. Los mecanismos de transporte que se han presentado en el capítulo se encuadran en las siguientes categorías:
canal de sodio: uniporte
glucosa permeasa: uniporte pasivo
Na^+-K^+-ATPasa: antiporte

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. Los lípidos son sustancias naturales que se disuelven en disolventes de hidrocarburos.
b. Los reguladores autocrinos son hormonas que actúan sobre la célula sintetizadora.
c. Las moléculas anfipáticas contienen grupos hidrófobos y grupos hidrófilos.
d. Un sesquiterpeno es un terpeno que contiene tres unidades isopreno.
e. La bicapa lipídica es la característica estructural básica de las membranas biológicas.
f. La prenilación es la unión covalente de grupos isoprenoides a una proteína.
g. La fluidez es una medida de la resistencia al movimiento de los componentes de la membrana.
h. Los quilomicrones son grandes complejos lipoproteicos con una densidad muy baja.
i. Un canal de membrana que se abre por cambios del voltaje de la membrana es un canal regulado por el voltaje.
j. Los terpenos son un gran grupo de moléculas que se encuentran principalmente en los aceites esenciales de las plantas; están formados por unidades isopreno.
k. CFTR es la abreviatura de regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, el canal de cloruro de la membrana plasmática de las células epiteliales.
l. Las acuaporinas son un grupo de proteínas canales de agua de las membranas biológicas.
3. a. Triacilglicerol — d. Ácido graso insaturado
b. Esteroides — e. Fosfatidilcolina
c. Éster de cera — f. Esfingolípido
5. Las lipoproteínas plasmáticas aumentan la solubilidad de las moléculas lipídicas hidrófobas que se transportan en el torrente sanguíneo hasta los diversos órganos. El componente proteico sirve para solubilizar las lipoproteínas de la sangre. También actúa como un receptor que permite la unión y la captura de las lipoproteínas por las células del cuerpo.
7. Muchas proteínas transmembrana y periféricas están unidas al citoesqueleto y por lo tanto no tienen libertad para moverse en la bicapa fosfolipídica.
9. Para que se mueva un fosfolípido de un lado de la bicapa al otro, la cabeza polar debe moverse a través de la porción hidrófoba de la membrana fosfolipídica. Este proceso requiere una cantidad significativa de energía y es por lo tanto relativamente lento.
11. Los eicosanoides proceden del ácido araquidónico. Las condiciones médicas en las que es ventajoso suprimir la síntesis de eicosanoides son la anafilaxia, las alergias, el dolor, la inflamación producida por una lesión y la fiebre.
13. Los compuestos indicados se clasifican como sigue:
a. monoterpeno — d. politerpeno
b. monoterpeno — e. diterpeno
c. sesquiterpeno — f. triterpeno
15. Los fosfolípidos son componentes de las membranas.
17. Los lípidos no participan directamente en el transporte activo de los iones. Los lípidos participan directamente en a, b, c y d.
19. Cada clase de proteína de transporte o transportador une una molécula específica. Como resultado de esta unión, se produce un cambio conformacional en el transportador, lo cual produce la translocación del ligando a través de la membrana. El transportador de glucosa rbc es un ejemplo de un transportador de esta clase.
21. a. Difusión simple
b. Difusión a través de acuaporinas
c. Difusión facilitada
d. Difusión facilitada
e. Transporte activo o canal regulado

Preguntas de Razonar

1. La fluidez de la membrana permite el movimiento flexible. Cualquier ruptura expone el centro hidrófobo de la membrana a un

entorno acuoso. Las interacciones hidrófobas juntan espontáneamente los extremos y junto con otros componentes de sellado de la membrana celular (p. ej., citoesqueleto e iones calcio), vuelven a sellar la membrana.

3. La mayoría del colesterol de la placa se produce por la ingestión de LDL por las células espumosas que recubren las arterias. Las concentraciones elevadas de LDL del plasma sanguíneo promueven por lo tanto la aterosclerosis. Debido a que las arterias coronarias son estrechas, son especialmente propicias a las oclusiones por la placa aterosclerótica.
5. Para que un fosfolípido se mueva de un lado de la bicapa al otro, la cabeza polar debe moverse a través de la porción hidrófoba de la membrana fosfolipídica. Este proceso requiere una cantidad significativa de energía y es, por lo tanto, relativamente lento.
7. Las pezuñas y los pulmones están sometidos a temperaturas mucho más bajas que el resto del cuerpo. A estas bajas temperaturas, la membrana debe modificarse de forma que las membranas permanezcan fluidas. Esto puede conseguirse aumentando la insaturación de las colas apolares de los fosfolípidos de la membrana.

CAPÍTULO 12

Preguntas del Capítulo

12.1. Las sales biliares emulsionan en el intestino delgado a los triacilgliceroles. Luego éstos se digieren por las lipasas, de las que la más importante es la lipasa pancreática. Los productos, los ácidos grasos y el monoacilglicerol, se transportan al interior de los enterocitos y se reconvierten en triacilgliceroles. Éstos se incorporan posteriormente a los quilomicrones, que luego se transportan a la linfa por exocitosis y, finalmente, al torrente sanguíneo para su transporte a las células adiposas.

12.2. Si existe una conexión entre las concentraciones de hormonas sexuales femeninas y la secreción de VLDL, la inyección de estrógenos a una rata macho debería tener los siguientes efectos: Debería producirse un aumento oportuno y mensurable de la secreción de VLDL. Este proceso requiere un aumento concomitante de la síntesis de los componentes de las VLDL, esto es: apoproteínas, triacilgliceroles, fosfolípidos y colesterol. La síntesis de FABP debería aumentar en respuesta al incremento de las concentraciones intracelulares de ácidos grasos.

12.3. a. Fosfolípidos b. Acetil-CoA c. Carnitina

12.4. De forma distinta a la oxidación de la glucosa para formar piruvato, la oxidación de los ácidos grasos, que implica al ciclo del ácido cítrico y al sistema de transporte electrónico, no puede funcionar en ausencia de O_2.

12.5. El rendimiento de la oxidación de la estearil-CoA se calcula de la siguiente forma:

8 $FADH_2$ × 1.5 ATP/$FADH_2$ =	12 ATP
8 NADH × 2.5 ATP/NADH =	20 ATP
9 Acetil-CoA × 10 ATP/Acetil-CoA =	90 ATP
	122 ATP

Se requieren dos ATP para formar estearil-CoA a partir de estearato para dar un total de 120 ATP.

12.6. En las células sin peroxisomas intactos visibles, la ausencia de lípidos de tipo éter o la formación de ácidos grasos de cadena larga sugiere que el orgánulo no está presente. Además, para diagnosticar el síndrome de Zellweger pueden emplearse las pruebas histoquímicas. Por ejemplo, los anticuerpos marcados radiactivamente contra las enzimas marcadoras peroxisómicas pueden utilizarse para determinar si se encuentra presente en las células la función peroxisómica.

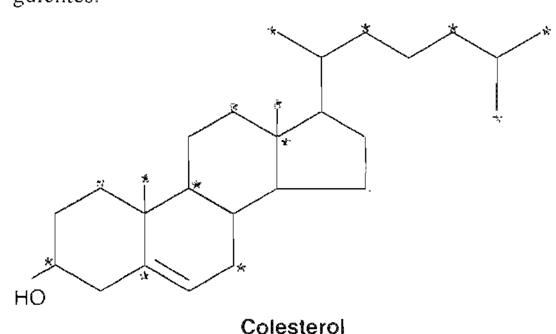
12.7. La propionil-CoA puede convertirse de forma reversible en succinil-CoA, un intermediario del ciclo del ácido cítrico. El oxalacetato, un intermediario situado más adelante en este ciclo, puede convertirse en PEP Éste, posteriormente se convierte en glucosa por gluconeogénesis. El ácido adípico experimenta una ronda de β-oxidación para dar acetil-CoA y succinil-CoA. Como se acaba de describir, la succinil-CoA se convierte luego en oxalacetato, PEE, y finalmente en glucosa.

12.8. Debido a que los esteroides inhiben la liberación de ácido araquidónico, su utilización desactiva la síntesis de la mayoría, si no todas, las moléculas de eicosanoides, de aquí su reputación como agentes antiinflamatorios potentes. La aspirina inactiva la ciclooxigenasa e impide la conversión del ácido araquidónico en PGG_2, la precursora de las prostaglandinas y los tromboxanos. La aspirina no es tan eficaz como agente antiinflamaorio como los esteroides debido a que sólo desactiva una parte de las rutas de síntesis de los eicosanoides.

12.9. Tras la hidrólisis de la sacarosa, ambos monosacáridos producto entran en el torrente sanguíneo y viajan hasta el hígado, donde la fructosa se convierte en fructosa-1-fosfato Recuérdese que la conversión de fructosa-1-fosfato en gliceraldehído-3-fosfato evita dos pasos reguladores. Por consiguiente, se producen más glicerol-fosfato y acetil-CoA (los sustratos de la síntesis de triacilgliceroles). Las concentraciones sanguíneas elevadas de glucosa que se producen por este consumo de cantidades elevadas de sacarosa desencadenan la liberación de cantidades de insulina superiores a lo normal. Una de las funciones de la insulina es estimular la síntesis de las grasas.

12.10. a. El β-hidroxibutirato es un producto del metabolismo de los cuerpos cetónicos.
b. La malonil-CoA es el producto de la reacción de la acetil-CoA y la carboxibiotina que tiene lugar durante la síntesis de los ácidos grasos.
c. La biotina es un transportador de CO_2 en la síntesis de los ácidos grasos y otras reacciones.
d. La acetil ACP proporciona acetato a la maquinaria de síntesis de ácidos grasos.

12.11. Los átomos de carbono marcados en el colesterol son los siguientes:



Colesterol

12.12. La estructura del cortisol se diferencia de la de la cortisona en que el grupo hidroxilo de C-11 está sustituido por un grupo carbonilo. El ácido glicirrícico inhibe la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, lo que impide la desactivación del cortisol. La cortisona se administra a los pacientes con la enfermedad de Addison debido a que se convierte en cortisol por la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, una enzima reversible.

12.13. La mayor actividad de la HMG-CoA reductasa en los pacientes obesos junto con una alimentación con muchas calorías aumenta la síntesis de colesterol.

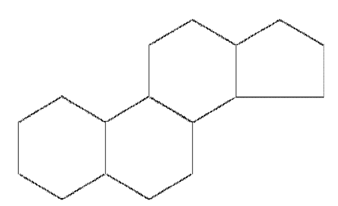
Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La biosíntesis a partir de nuevas sustancias se denomina *de novo*.
b. Los cuerpos grasos son estructuras que almacenan los triacilgliceroles.

c. La β-oxidación es la ruta principal de degradación de los ácidos grasos en la que se eliminan fragmentos de dos carbonos en forma de acetil-CoA desde el extremo carboxilo de los ácidos grasos.
d. Se denomina recambio a la tasa a la que se degradan y se reemplazan las moléculas.
e. La fragmentación tiolítica es la ruptura por la tiolasa entre los carbonos α y β de un β-cetoácido durante la β-oxidación para producir una molécula de acetil-CoA y una nueva acil-CoA.
f. Los autoanticuerpos son proteínas de defensa que se unen a la superficie de las propias células del paciente como si fueran ajenas.
g. Las moléculas de acetil-CoA se condensan para producir acetona, β-hidroxibutirato y acetoacetato (los cuerpos cetónicos) en un proceso que se denomina cetogénesis.
h. El proceso catalizado por enzimas en el que las moléculas hidrófobas se solubilizan de forma que puedan eliminarse se denomina biotransformación.
i. Una reacción de conjugación puede mejorar la hidrosolubilidad de una molécula al convertirla en un derivado que contiene un grupo hidrosoluble.

3. Los peroxisomas tienen enzimas de la β-oxidación que son específicas para los ácidos grasos de cadena larga, mientras que las mitocondrias poseen enzimas que son específicas para los ácidos grasos con cadenas de longitud corta o moderada. Además, la primera reacción de la ruta peroxisómica esta catalizada por una enzima diferente a la de la ruta mitocondrial. El $FADH_2$ producido en la primera reacción peroxisómica cede sus electrones directamente al O_2 (formando H_2O_2) en lugar de a la UQ como en las mitocondrias. Los procesos se asemejan en que la acetil-CoA procede de la oxidación de los ácidos grasos.
5. La síntesis de los ácidos grasos en los vegetales se diferencia de la de los animales en los siguientes aspectos: localización (la síntesis de ácidos grasos en los vegetales tiene lugar principalmente en los cloroplastos, mientras que en los animales la biosíntesis de los ácidos grasos tiene lugar en el citoplasma), el control metabólico (en los animales el paso limitante de la velocidad está catalizado por la acetil-CoA carboxilasa, mientras que en los vegetales no parecer ser éste el caso), la estructura de la enzima (las estructuras de la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintetasa de los vegetales se parecen más a las mismas enzimas de *E. coli* que a las de los animales).
7. Los esteroides son compuestos que contienen el siguiente sistema de anillo:



El término *esteroide* suele utilizarse para designar a todos los compuestos que contienen este sistema de anillo. Se reserva con mayor precisión para los derivados que contienen grupos carbonilo. Los esteroles tienen una estructura semejante aunque también contienen grupos hidroxilo.
9. La insulina facilita el transporte al interior de los adipocitos y estimula la síntesis de ácidos grasos y la síntesis de triacilgliceroles. Impide la lipólisis al inhibir a la proteína quinasa.
11. Las porciones hidrófobas de la molécula son las largas colas de hidrocarburo de la molécula. La porción hidrófila de la molécula es el grupo funcional éster fosfato. Las colas de hidrocarburos se encuentran entre la bicapa, y el grupo de cabeza fosfato se encuentra en la superficie de la molécula.
13. Como se ha descrito (véase la respuesta a la pregunta 12.5), cada molécula de ácido esteárico genera 120 ATP. Por consiguiente, los tres productos de la hidrólisis de la triestearina rinden 360 ATP. El glicerol se transporta hasta el hígado donde se utiliza para la gluconeogénesis.
15. Todas las moléculas lipídicas se sintetizan originalmente a partir de unidades isopreno en moléculas de isopentenil pirofosfato. Las moléculas de esteroides y de terpenos se ensamblan mediante condensación cabeza-cola de estos grupos.

Preguntas de Razonar

1. La reacción en la que la HMG-CoA reductasa reduce a la HMG para formar mevalonato es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de colesterol. Las estatinas, que inhiben esta enzima, actúan para disminuir las concentraciones de colesterol en sangre en los pacientes.
3. La carnitina es necesaria para el transporte de los ácidos grasos al interior de las mitocondrias, donde se oxidan para generar energía. Cuando las concentraciones de carnitina son bajas, se altera el metabolismo de las grasas. Aunque el metabolismo de la glucosa se acelera, se produce una deficiencia de energía. Además, la acumulación de moléculas de acil-CoA las hace sustratos de procesos competitivos como la β-oxidación peroxisómica y la síntesis de triacilgliceroles.
5. Las dietas severas estimulan una lipólisis masiva. Las grandes cantidades de acetil-CoA que se generan en este proceso desencadenan un gran aumento de la síntesis de cuerpos cetónicos. Cuando se encuentran presentes en estas cantidades tan grandes, los cuerpos cetónicos desbordan la capacidad amortiguadora de la sangre y su pH cae.
7. Los fosfolípidos de la membrana se sintetizan en el lado citoplásmico de la membrana del REL. Debido a que los grupos de cabeza polares de las moléculas de fosfolípido hacen muy poco probable el transporte a través del centro hidrófobo de una membrana, se utiliza un mecanismo de translocación para transferir los fosfolípidos a través de la membrana para asegurar un crecimiento equilibrado. Los fosfolípidos que contienen colina se encuentran en grandes concentraciones en el lado luminal de la membrana del RE debido a que una destacada proteína translocalizadora de fosfolípidos que se denomina flipasa transfiere de manera preferente esta clase de moléculas.
9. En la oxidación del ácido butírico por la ruta de β-oxidación se producen 1 mol de $FADH_2$, 1 mol de NADH y dos moles de acetil-CoA.

CAPÍTULO 13

Preguntas del Capítulo

13.1. a. El LHCII es el complejo II recolector de luz; consta de una proteína transmembrana que une numerosas moléculas de clorofila a y clorofila b y carotenoides; un componente principal de la membrana tilacoide.
b. La luteína es una clase de pigmento recolector de luz que se encuentra dentro de la membrana tilacoide.
c. El PSII es el fotosistema II, un complejo formado por proteínas y moléculas de pigmento situado en las regiones apiladas de la membrana tilacoide, que oxida las moléculas de agua y cede electrones energetizados a los transportadores electrónicos que finalmente reducen el fotosistema I.
d. El MSP es una proteína que estabiliza el manganeso; el componente del PSII que produce el oxígeno; situado en las regiones apiladas de la membrana tilacoide.
e. CF_0CF_1 es el componente ATP sintasa de la membrana tilacoide que penetra en el estroma.
f. P700 es un par especial de moléculas de clorofila dentro del fotosistema I que absorbe luz a 700 nm.
g. P680 es un par especial de moléculas de clorofila dentro del fotosistema II que absorbe luz a 680 nm.
h. La generación de O_2 tiene lugar en el complejo que produce el oxígeno, el cual contiene MSP y un residuo de tirosina

esencial situado en el fotosistema II. Los electrones que se generan en la reducción del agua se utilizan para sustituir a los que se transfieren del PSII cuando se absorbe la energía luminosa.

13.2. La energía de un fotón es proporcional a su frecuencia. La luz azul tiene una frecuencia mayor que la luz verde, y por lo tanto tiene mayor energía.

13.3. La presencia de pigmentos antena permite a los sistemas recolectores de luz de los cloroplastos recoger energía de un intervalo de frecuencias mayor que aquellas absorbidas por las clorofilas. Debido a que sus espectros de absorción se solapan, la energía absorbida por los pigmentos antena se transfiere rápidamente a las clorofilas esenciales de PSI y PSII.

13.4. La luz excesiva impulsa la formación de ROS, que dañan a las proteínas como D_1. El β-caroteno es un antioxidante que impide parte de este daño.

13.5. a. La plastocianina es un componente del complejo citocromo b_6f: una cuproproteína que acepta electrones de la plastoquinona.
b. El β-caroteno es un pigmento carotenoide que proteje a las moléculas de clorofila de las ROS.
c. La plastoquinona es un componente del fotosistema II que acepta electrones de la feofitina a para transformarse en plastoquinol.
d. La feofitina a es una molécula de estructura semejante a la clorofila que es un componente de la ruta de transporte de electrones entre el PSII y el PSI.
e. La luteína es un carotenoide componente de los complejos recolectores de luz.

13.6. El proceso de fosforilación modifica la conformación y las características de unión del complejo y por lo tanto altera su capacidad para unirse al PSII.

13.7. Las moléculas desacopladoras detienen la síntesis de ATP en las mitocondrias y los cloroplastos debido a que destruyen los gradientes de protones.

13.8. La agitación de los cloroplastos en una disolución ácida disminuye su pH interno. El tratamiento con bases establece un gradiente de pH artificial a través de la membrana tilacoide. Al fluir los protones a favor de este gradiente, se sintetiza el ATP.

13.9. De los herbicidas presentados, el paraquat y la DCMU son los más peligrosos para el ser humano. El paraquat genera radicales libres que pueden atacar a los componentes celulares. La DCMU envenena el complejo de transporte electrónico.

13.10. Las moléculas de O_2 se generan a partir del agua.

13.11. Las reacciones del ciclo de Calvin se parecen mucho a la ruta de las pentosas fosfato.

13.12. La hidrólisis del glicerato-1,3-bisfosfato genera 1 mol de ATP. Recuérdese que la respiración aerobia se estimula por concentraciones relativamente elevadas de ADP y se inhibe por concentraciones relativamente elevadas de ATP. Cualquier aumento mensurable de la concentración de ATP tiene el efecto de deprimir la respiración aerobia. Recuérdese también que el ATP es un inhibidor de la PFK-1 y de la piruvato quinasa, enzimas que se requieren para canalizar los esqueletos carbonados en el ciclo del ácido cítrico.

13.13. La fotorrespiración, un proceso derrochador que genera CO_2, está favorecida por las concentraciones bajas de CO_2 y las concentraciones elevadas de O_2 y las temperaturas altas. En las plantas C4, el CO_2 se incorpora al oxalacetato por la noche dentro de células mesófilas especializadas, cuando es menor el riesgo de perder agua. Por la mañana, el CO_2 liberado dentro de las células de fundas de haces se incorpora en moléculas de azúcar. Debido a que la concentración de CO_2 es elevada dentro de estas células en comparación con la concentración de O_2, se evita la fotorrespiración. En las plantas CAM, el CO_2 se incorpora también en oxalacetato y por la noche dentro de las células mesófilas. El oxalacetato se reduce posteriormente para formar malato. Por la mañana, la luz estimula la conversión de malato en piruvato y CO_2. Como en las plantas C4, una mayor concentración celular de CO_2 inhibe la fotorrespiración.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. Un fotosistema es un complejo molecular que absorbe la luz y la convierte en energía química.
b. Un centro de reacción es un componente pigmento-proteína de un fotosistema que intermedia la conversión de la energía luminosa en energía química.
c. Las reacciones luminosas son un mecanismo bioquímico por el que los electrones energetizados por la luz se utilizan a continuación para la síntesis de ATP y de NADPH.
d. Las reacciones oscuras son reacciones independientes de la luz en las que el ATP y el NADPH que se generan durante las reacciones luminosas se utilizan para la síntesis de hidratos de carbono.
e. La fotorrespiración en los cloroplastos es un proceso derrochador en el que se consume O_2 y se libera CO_2.

3. Los tres pigmentos fotosintetizadores primarios son (1) las clorofilas, que absorben longitudes de onda azul-violeta y rojas; (2) los carotenoides, que sirven como pigmentos antena y protegen de las ROS; y (3) las xantófilas, que también sirven como pigmentos antena.

5. Las moléculas excitadas pueden regresar al estado basal por diversos medios: (1) fluorescencia (se absorbe luz de una longitud de onda y se emite a una longitud de onda más larga), (2) transferencia de energía de resonancia (se transfiere la energía a los cromóforos vecinos con espectros de absorción solapantes), (3) oxidación-reducción (un electrón excitado regresa a su estado basal reduciendo a otra molécula), (4) desintegración sin radiación (una molécula excitada regresa al estado basal y pierde su exceso de energía en forma de calor). De estos procesos, la oxidación-reducción y la transferencia de energía de resonancia son importantes en la fotosíntesis. La oxidación-reducción es importante en la transferencia de electrones a través de los transportadores electrónicos como las quinonas y los complejos hierro-azufre. La transferencia de energía de resonancia pasa la energía luminosa a la clorofila desde los pigmentos accesorios.

7. Durante las reacciones luminosas de la fotosíntesis, el transporte electrónico impulsado por la luz da lugar a la síntesis de ATP y NADPH.

9. El sistema que genera el oxígeno se denomina reloj debido a que se producen cinco estados de oxidación-reducción que deben completarse por orden.

11. Las longitudes de onda óptimas de la fotosíntesis parecen ser 400-500 nm y 600-700 nm.

13. Entre los metales más notables presentes en los sistema fotosintetizadores están el magnesio, el manganeso, el hierro y el cobre. El magnesio estabiliza el anillo de porfirina en las moléculas de clorofila sin añadir un lugar de elemento redox durante la reducción del agua a oxígeno. El manganeso actúa como centro redox en la transferencia de electrones desde los transportadores de electrones quinonas a los aceptores electrónicos terminales en la fotosíntesis. Finalmente, el cobre actúa como el aceptor electrónico terminal del PSII antes de que los electrones se transfieran al P700 en el PSI.

15. El esquema Z es un mecanismo por el cual los electrones se transfieren desde el agua al $NADP^+$. Este proceso produce el agente reductor NADPH que se requiere para fijar el dióxido de carbono en las reacciones independientes de la luz de la fotosíntesis. La elimina-

ción de los electrones del agua también da lugar a la producción de oxígeno. Al fluir los electrones desde el PSII al PSI, los protones se bombean a través de la membrana tilacoide, un proceso que establece el gradiente de protones que impulsa la síntesis de ATP.

17. El cloroplasto contiene las membranas tilacoides en forma apilada y sin apilar. La ATPasa está orientada en la membrana de forma que la síntesis de ATP está siempre expuesta hacia el compartimiento del estroma. El LHCII y el PSII están muy concentrados en las regiones apiladas para hacer máxima la recogida de la luz y la transferencia electrónica. El PSI, que no debe recibir su energía de excitación directamente del PSII, está separado físicamente de él en las regiones no apiladas. La sustitución de electrones del PSI y el PSII está intermediada por transportadores móviles, de forma que la separación física no es un problema.

Preguntas de Razonar

1. Los electrones energetizados por la absorción de luz se utilizan para generar NADPH. Este NADPH se utiliza en una gran cantidad para fijar el CO_2 en moléculas de hidratos de carbono. Si no se dispone de CO_2, se acumula el NADPH y las moléculas de clorofila no tienen transferencia de electrones disponible como forma de regresar al estado relajado. Una vía disponible es liberar la energía en forma de un fotón, esto es, producir fluorescencia.
3. Sólo puede absorberse por los pigmentos fotosintetizadores luz de una determinada energía. El aumento de la intensidad de la luz incrementa el número de fotones presentes y de esta forma puede mejorar la tasa de fotosíntesis. El aumento del nivel energético de la luz, es decir, la energía de los fotones, disminuye la tasa de fotosíntesis al desviar a los fotones a niveles energéticos que no son absorbidos por los fotosistemas.
5. Las concentraciones elevadas de oxígeno impulsan la fotorrespiración.
7. Los cloroplastos poseen un DNA semejante al de las cianobacterias actuales, así como una maquinaria de síntesis de proteínas semejante a la de los procariotas. Además, se multiplican mediante fisión binaria, tal y como lo hacen las bacterias.
9. En condiciones de temperatura elevada, el punto de compensación del dióxido de carbono de las plantas C3 aumenta debido a que la actividad oxigenasa de la rubisco aumenta más rápidamente que la actividad carboxilasa.
11. Los herbicidas destruyen los organismos fotosintetizadores marinos y de esta manera disminuyen la producción mundial de O_2.

CAPÍTULO 14

Preguntas del Capítulo

14.1. a. CH_3NH_2 b. NH_3 c. CH_3CH_3

14.2. Véase la Figura 14-1.

14.3. Las proteínas se ensamblan en los ribosomas en forma de una secuencia lineal especificada por la secuencia de bases de un mRNA. Si no está presente alguno de los aminoácidos, el proceso se detiene cuando la secuencia de bases que especifica su incorporación en la proteína entra en el lugar activo del ribosoma.

14.4. Los productos de transaminación son los siguientes:

Glutamina
(a)

Isoleucina
(b)

Fenilalanina
(c)

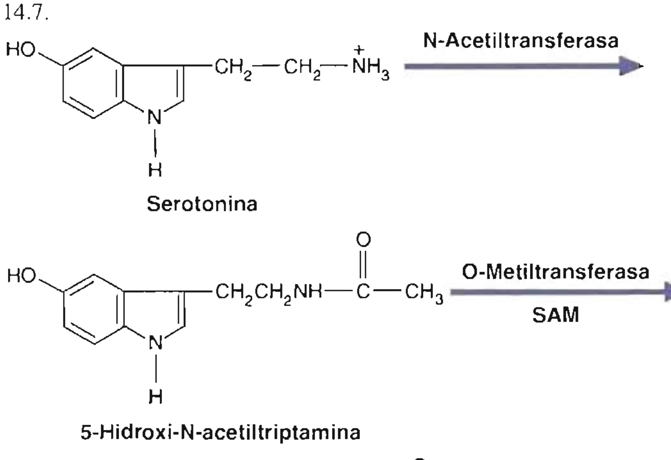
Aspartato
(d)

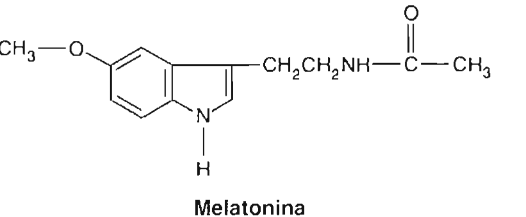
Aspartato
(e)

14.5. a. Ácido glutámico
b. Triptófano
c. Histidina
d. Tirosina
e. Prolina

14.6. Debido a su gran semejanza con el ácido fólico, el metotrexato es un inhibidor competitivo de la enzima dihidrofolato reductasa. (Recuerde que esta enzima convierte el ácido fólico en su forma biológicamente activa THF.) Las células que se dividen rápidamente requieren cantidades grandes de ácido fólico. El metotrexato impide la síntesis de THF, el transportador de un carbono que se requiere en la síntesis de nucleótidos y de aminoácidos. Es por lo tanto tóxico para las células que se dividen rápidamente, especialmente aquellas de determinados tumores y células normales que se dividen frecuentemente, como las células del pelo y las del tubo digestivo.

14.7.





14.8. Las clases de reacciones que participan en la síntesis del IAA a partir del triptófano son una desaminación (eliminación del grupo α-amino) y una descarboxilación oxidativa.

14.9. La ruptura de la función que acompaña a la lesión cerebral tiene numerosas consecuencias. Entre ellas están la reducción de la síntesis de ATP y las concentraciones iónicas intracelulares desequilibradas que produce la falta de oxígeno. En estas condiciones, cuando se restablece el aporte de oxígeno, la producción de ROS aumenta la cantidad de lesión de las células cerebrales. Entre las ROS que se forman están superóxidos, radicales hidroxilo, oxígeno singlete y anión peroxinitrito. Las defensas celulares normales contra las ROS, como el NADPH, el GSH y las vitaminas antioxidantes, como las vitaminas C y E, y los sistemas enzimáticos antioxidantes, se agotan rápidamente debido a la ruptura de la síntesis y/o del transporte. Cuando las células se hinchan, liberan el neurotransmisor excitador glutamato, que estimula la síntesis de NO de algunas células cercanas. En estas circunstancias la síntesis de NO excesiva y sin regular es muy peligrosa para los tejidos cerebrales, debido en parte a que la presencia de concentraciones elevadas de ROS producen la formación del anión tóxico peroxinitrito.

14.10. La fuente del grupo fosforribosilo de los nucleótidos es el PRPP (5-fosforribosil-α-D-1-pirofosfato). El PRPP se genera a partir de la ribosa-5-fosfato, un producto de la ruta de las pentosas fosfato.

14.11. a. La succinil-CoA se condensa con la glicina para dar δ-aminolevulinato (ALA), un intermediario de la ruta de biosíntesis del hemo.
b. Esta molécula es el producto inicial de la condensación de la succinil-CoA y la glicina para formar ALA. Ésta se forma cuando el grupo carboxilo se libera.
c. El carbamoil fosfato reacciona con el aspartato para formar carbamoil aspartato, un precursor del orotato y, por consiguiente, del UMP.
d. El fosforribosilpirofosfato reacciona con el orotato para dar orotidina-5′-fosfato, un precursor del UMP.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1 a. Los aminoácidos esenciales son moléculas que no puede sintetizar un animal y debe obtenerlas de su alimentación.
b. El balance de nitrógeno es una condición fisiológica en la que las entradas de nitrógeno al organismo son iguales a las pérdidas de nitrógeno.
c. En las rutas *de novo*, se sintetizan las moléculas como los aminoácidos o los nucleótidos a partir de precursores sencillos.
d. Las aminas biógenas son aminoácidos o derivados de aminoácidos que actúan como neurotransmisores.
e. Una excitotoxina es una molécula que puede sobreestimular suficientemente a una célula, produciendo su muerte.
f. Un neurotransmisor retrógrado es una molécula que libera una célula postsináptica y difunde hacia atrás para impulsar una acción en una célula presináptica.
g. Un análogo es un compuesto de estructura semejante a una biomolécula como un nucleótido.
h. Las auxinas son una clase de reguladores del crecimiento de las plantas.
i. La anemia perniciosa es una enfermedad producida por una deficiencia de vitamina B_{12}; entre los síntomas están la anemia.

3. Mientras que la incorporación de nitrógeno en moléculas orgánicas está favorecida termodinámicamente, las condiciones de la biosfera (T, P y pH) son tales que las transiciones tienen una probabilidad cinética baja. Sólo unos pocos organismos poseen la maquinaria para superar la barrera energética para la síntesis de los compuestos nitrogenados.

5. El glutamato se sintetiza a partir del α-cetoglutarato por dos medios: (1) transaminación, que catalizan las aminotransferasas (se requiere como coenzima piridoxal fosfato) y (2) aminación directa, que cataliza la glutamato deshidrogenasa. El NADPH proporciona el poder reductor para esta reacción.

7. El hígado utiliza alanina, junto con serina, para construir glucosa. Las concentraciones de fenilalanina, glicina y prolina no se afectan en mayor medida que en otros tejidos. Las concentraciones en sangre de los aminoácidos de cadena ramificada isoleucina y valina permanecen inalteradas.

9. La glutamina se produce en las siguientes reacciones:
a. α-Cetoglutarato + NADH + NH_3 + H^+ ⟶ Glutamato
Glutamato + NH_3 + ATP ⟶ Glutamina + ADP + P_i
b. La metionina se produce en la serie de reacciones siguientes:
L-Aspartato + ATP ⟶ β-Aspartilfosfato + P_i + ADP
β-Aspartilfosfato + NADPH + H^+ ⟶
Aspartato β-Semialdehído
Aspartato β-Semialdehído +NADPH + H^+ ⟶ Homoserina
Homoserina ⟶ Cisteína ⟶ Homocisteína ⟶ Metionina
c. La homoserina que se produce como en la parte b de arriba reacciona como sigue:
Homoserina + ATP ⟶ Fosfohomoserina + ADP + H^+
Fosfohomoserina + H_2O ⟶ Treonina + P_i
d. La glicina se produce en la serie de reacciones siguientes:
3-Fosfoglicerato + NAD^+ ⟶
3-Fosfohidroxipiruvato + NADH + H^+
3-Fosfohidroxipiruvato + Glutamato ⟶
3-Fosfoserina + α-Cetoglutarato
3-Fosfoserina + H_2O ⟶ Serina + P_i
Serina + THF ⟶ Glicina + N^5,N^{10}-metileno THF + H_2O
e. Serina + L-Homocisteína ⟶ Cistationina + H_2O
Cistationina + H_2O ⟶ Cisteína + α-Cetobutirato + NH_4^+

11. Los dos transportadores de un carbono más destacados son el THF (el derivado biológicamente activo del ácido fólico) y la S-adenosilmetionina (SAM). El THF desempeña funciones importantes en la síntesis de varios aminoácidos y de los nucleótidos. La SAM es un donador de metilo en la síntesis de numerosas biomoléculas, por ejemplo, fosfatidilcolina, adrenalina y carnitina.

13. Los diez aminoácidos esenciales en el ser humano son isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Además, la histidina y la arginina son esenciales para los niños. Estos aminoácidos son esenciales debido a que no pueden sintetizarse en las cantidades requeridas por los seres humanos y deben incluirse en el alimento.

15. No. Los dos anillos fusionados del sistema de anillo de purina originan una interacción estérica con la pentosa. Los anillos de pirimidina sólo contienen un anillo y son mínimas las interacciones estéricas con la pentosa.

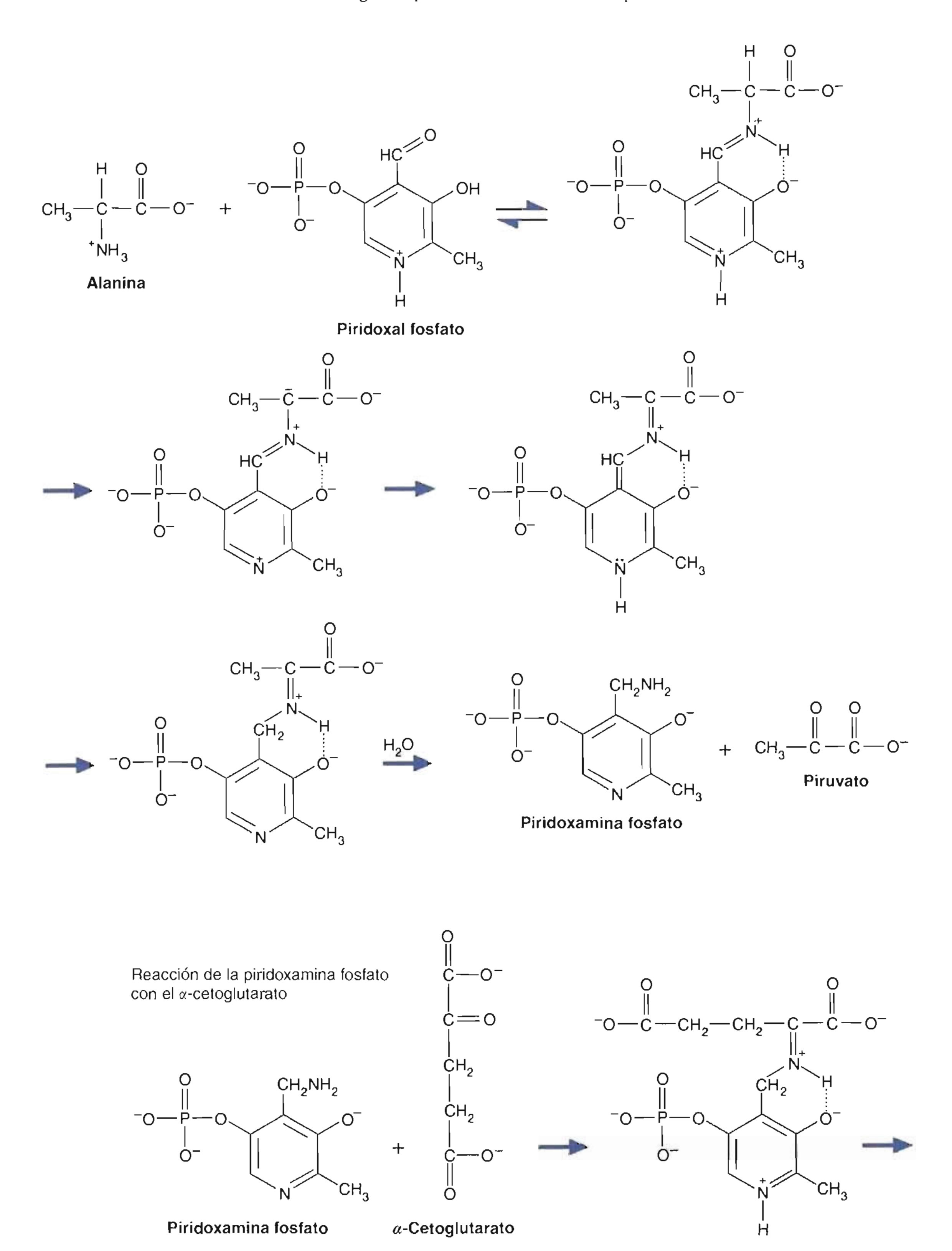
17. Las reacciones de la síntesis de purinas se esbozan en la Figura 14-24 de la pág. 490.

19. En el ciclo del γ-glutamilo, el glutatión se elimina de la célula. La γ-glutamiltranspeptidasa convierte el GSH en γ-glutamilaminoácido y Cys-Gly. El γ-glutamilaminoácido se transporta al interior de la célula donde se convierte en 5-oxoprolina y el aminoácido libre. La 5-oxoprolina finalmente se reconvierte en GSH. La Cys-Gly se transporta al interior de la célula donde se hidroliza a cisteína y glicina. La situación de la γ-glutamiltransferasa en la membrana plasmática facilita el proceso de transporte debido a que su función está ligada al transporte. El glutamilaminoácido transportado se convierte inmediatamente en 5-oxoprolina y el

aminoácido libre, impulsando de esta forma la reacción a favor del transporte (captura de los aminoácidos).

21. La disminución de la síntesis o la ausencia total de glicina producen la acumulación de 5-fosfo-β-D-ribosilamina, el otro sustrato de la enzima fosforribosilglicinamida sintasa.

23. Reacción del piridoxal fosfato con alanina:



H_2O

Piridoxal fosfato

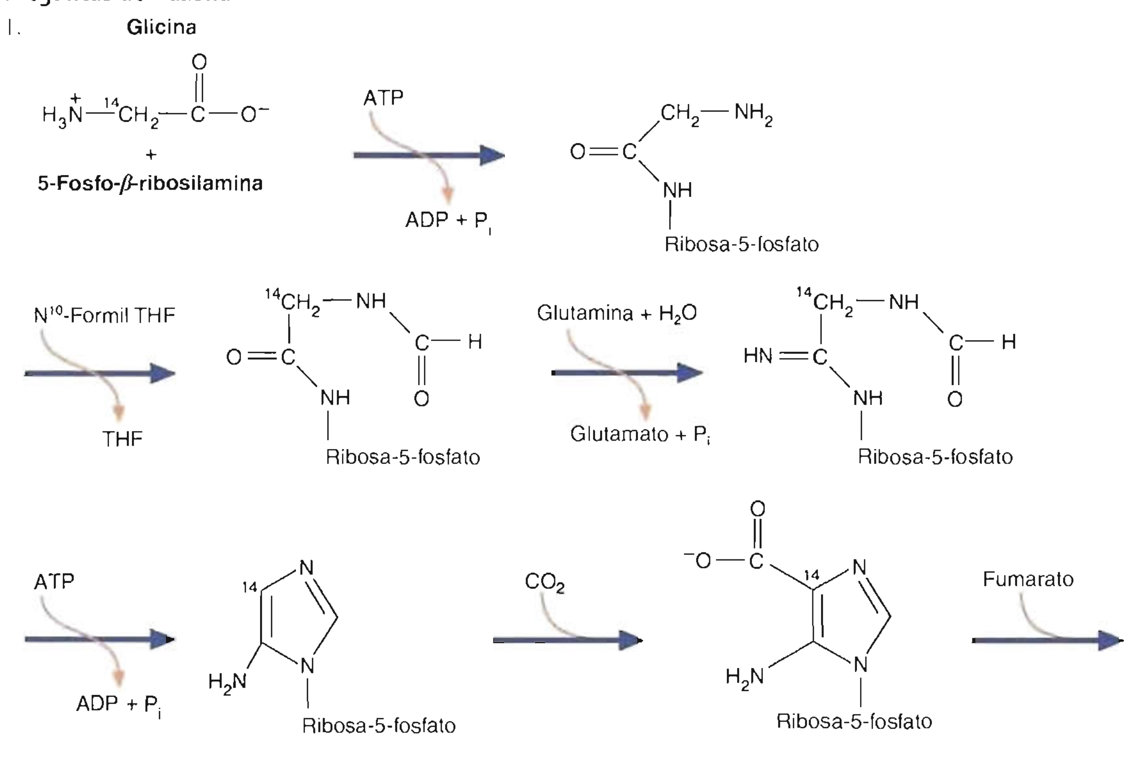
+

Glutamato

25. a. El ácido γ-aminobutírico es un neurotransmisor inhibidor.
    b. La tetrahidrobiopterina es un cofactor esencial en la hidroxilación de determinados aminoácidos.
    c. El oxalacetato es un intermediario del ciclo del ácido cítrico y el α-cetoácido en las reacciones de transaminación en las que participa el aspartato.
    d. El fosforribosilpirofosfato es la fuente de la ribosa en las rutas de síntesis de nucleótidos.
    e. La S-adenosilmetionina es un agente de transferencia de metilo.

Preguntas de Razonar

1. **Glicina**



N^{10}-Formil THF → THF

Ribosa-5-fosfato

→ H_2O

Ribosa-5-fosfato

Inosina-5′-monofosfato

→ →

Ribosa-5-fosfato

Adenosina monofosfato

3. La carrera es una actividad física que requiere el metabolismo rápido de ácidos grasos y glucosa. La fuente de glucosa que se emplea más rápidamente es la glucosa sanguínea. Aunque determinados aminoácidos pueden absorberse fácilmente en el intestino y utilizarse como sustratos de la gluconeogénesis en el hígado, este proceso es más lento que la absorción inmediata de la glucosa a la sangre.

5. $GSH + {\cdot}OH \longrightarrow GS^{\cdot} + H_2O$

$2GS^{\cdot} \longrightarrow GSSG$

7. La transaminación de lisina:

$$^{-}OOC-CH(\overset{+}{N}H_3)-(CH_2)_4-NH_2 \xrightarrow{\text{Transaminación}} {}^{-}OOC-C(=O)-(CH_2)_4-NH_2 \longrightarrow$$

(anillo con COO^- en 1 y N en 6)

Si la lisina se transamina, el grupo ε-amino del nuevo cetoácido (que procede de la lisina) se ciclará para formar una base de Schiff intramolecular. Por consiguiente, el α-cetoácido que se requiere para producir lisina por transaminación no puede existir en cantidades apreciables. Por lo tanto, no puede producirse la lisina por esta reacción.

9. Durante la reacción que cataliza la serina hidroximetiltransferasa el átomo de carbono de la serina marcado radiactivamente entra en el conjunto de THF como N^5,N^{10}-metileno THF. Debido a que el N^5,N^{10}-metileno THF se convierte reversiblemente en N^5,N^{10}-metenil THF y N^{10}-formil THF (la coenzima que se utiliza en la síntesis de purinas) parte de los átomos de carbono marcados radiactivamente entrarán en la ruta de síntesis de purinas. Debido a que se requiere el N^{10}-formil THF como coenzima en las reacciones en las que se sintetizan 5′-fosforribosil-N-formil-glicinamida y 5-fosforribosil-4-carboxamida-5-foramidoimidazol, el ^{14}C aparecerá como C-2 y C-8 del anillo de purina (se muestra más abajo).

11. La ruptura del enlace perpendicular al anillo de pirimidina genera un orbital *p* que puede interaccionar con el sistema π del anillo de pirimidina. La deslocalización resultante de la carga estabiliza el carbanión.

CAPÍTULO 15

Preguntas del Capítulo

15.1. En los animales recién nacidos, la arginina será un aminoácido esencial si el ciclo de la urea no es aún completamente funcional.

15.2. Determinadas bacterias intestinales pueden liberar amoníaco a partir de moléculas de urea que difunden a través de la membrana en la luz intestinal. El tratamiento con antibióticos destruye estos organismos, reduciendo así la concentración de amoníaco en sangre.

15.3.

$$^{-}O_2S-CH_2-CH(\overset{+}{N}H_3)-C(=O)-O^{-} \xrightarrow{\text{Descarboxilación}} {}^{-}O_2S-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3 + CO_2$$

Cisteína sulfato

$$^{-}O_2S-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3 \xrightarrow{\text{Oxidación}} {}^{-}O_3S-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$$

Taurina

15.4. Los siguientes aminoácidos son cetogénicos y glucogénicos: fenilalanina, isoleucina, lisina, triptófano y tirosina.

15.5. a. La dopamina se inactiva en una reacción de oxidación que cataliza la MAO para formar 3,4-dihidroxifenilacetaldehído.
b. La serotonina se inactiva en una ruta en dos pasos: tras la oxidación de la serotonina por la MAO para formar 5-hidroxiindol-3-acetaldehído, el producto se oxida aún más por la MAO para formar 5-hidroxiindol-3-acetato.
c. La adrenalina se inactiva por la MAO para formar 3,4-dihidroxifenilglicolaldehído.
d. La noradrenalina se oxida por la MAO para formar 3,4-dihidroxifenilglicolaldehído.

15.6. La acetilcolina se degrada normalmente de forma rápida por la colinesterasa. Los fármacos que bloquean la acción de la colinesterasa impiden esta hidrólisis. Por consiguiente, las moléculas de acetilcolina permanecen en la hendidura sináptica durante un largo tiempo. Allí pueden unirse y volver a unirse de

forma rápida y reversible a un número reducido de receptores funcionales de acetilcolina. Este proceso impulsa la despolarización de las células musculares.

15.7. La gota está producida por concentraciones elevadas de ácido úrico. Los animales que no padecen gota poseen la enzima urato oxidasa, que convierte el ácido úrico en alantoína. A diferencia del ácido úrico, que es relativamente insoluble en la sangre, la alantoína se disuelve fácilmente y se elimina con facilidad.

15.8.

En las raíces:

$NH_4^+ + CO_2 \longrightarrow$ Urea $\xrightarrow{\text{Glioxilato}}$ $H_2N{-}C({=}O){-}NH{-}CH(COOH){-}NH{-}C({=}O){-}NH_2$

Alantoato

En las hojas:

$H_2N{-}C({=}O){-}NH{-}CH(COOH){-}NH{-}C({=}O){-}NH_2 \longrightarrow$ Urea + Glioxilato

Urea $\longrightarrow NH_4^+ + CO_2$

$NH_4^+ + {}^-O{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH_2{-}C({=}O){-}C({=}O){-}O^- \longrightarrow {}^-O{-}C({=}O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH({}^+NH_3){-}C({=}O){-}O^-$

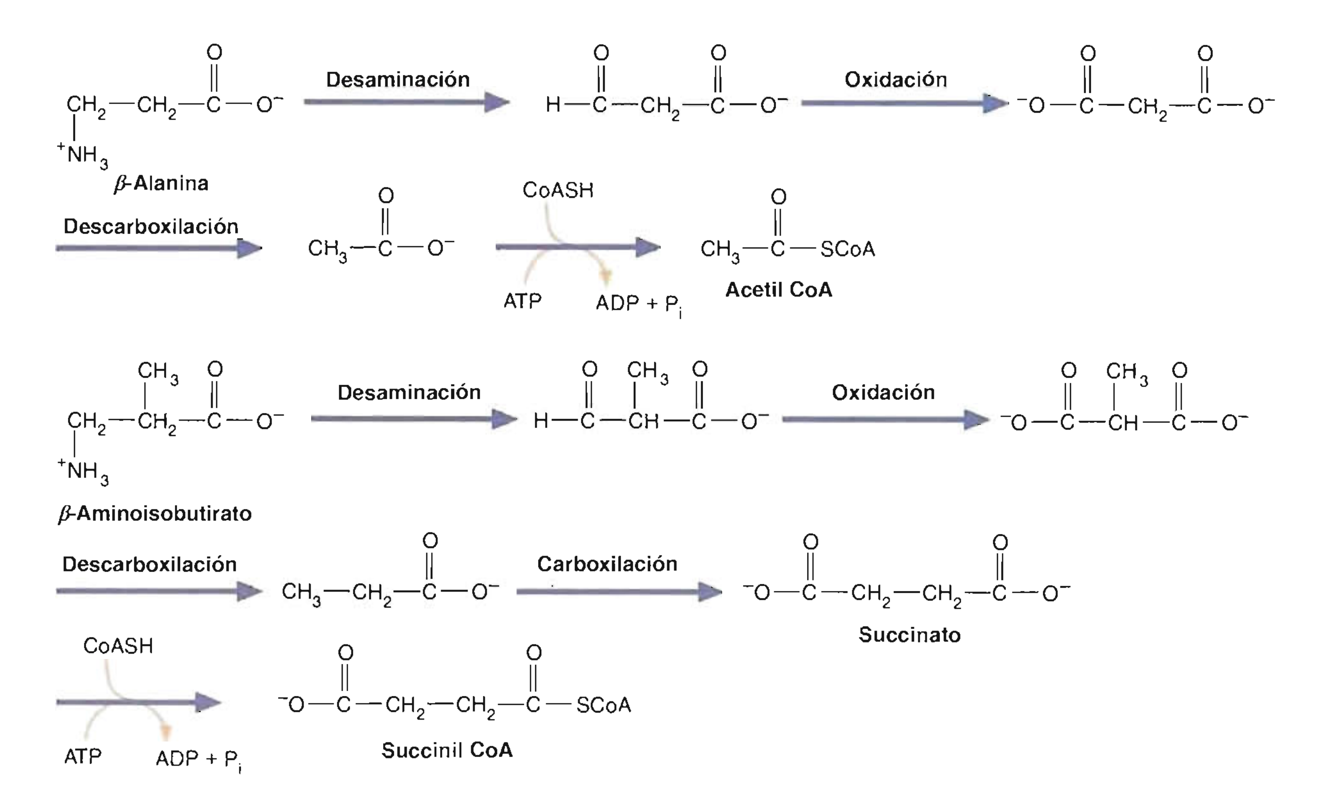
α-Cetoglutarato **Glutamato**

15.9. a. La urea se forma a partir de amoníaco, CO_2 y aspartato en el ciclo de la urea.

b. El ácido úrico es el producto de la oxidación de las purinas.

c. La β-alanina se produce en la ruta degradativa de las pirimidinas.

15.10. Reacciones catabólicas que se sugieren para la β-alanina y el β-aminoisobutirato.



Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. En la desnitrificación, el nitrato se convierte en nitrógeno atmosférico.
   b. Los animales amoniotélicos eliminan amoníaco directamente, es decir, sin convertirlo en moléculas menos tóxicas.
   c. El término *recambio proteico* describe un proceso en el que las proteínas de los seres vivos se sintetizan y degradan constantemente.
   d. La ubiquinación es un mecanismo eucariota por el que las proteínas inicialmente destinadas a la degradación se ligan a la proteína pequeña ubiquitina.
   e. La intoxicación por amoníaco es el trastorno potencialmente mortal que producen las concentraciones elevadas de amoníaco en sangre.
   f. La respuesta inmunitaria humoral es la producción de anticuerpos por los linfocitos B.
   g. La hiperuricemia es una concentración elevada de ácido úrico en sangre.
3. El proceso de recambio proteico impulsa la flexibilidad metabólica, protege a las células de la acumulación de proteínas anómalas y es una característica clave de los procesos del desarrollo de los organismos.
5. Los productos metabólicos de la degradación de los aminoácidos son acetil-CoA, acetoacetil-CoA, piruvato, α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxalacetato.
7. Véase en las páginas siguientes una descripción de la degradación de cada aminoácido
   a. lisina pág. 512
   b. glutamato pág. 514
   c. glicina pág. 511
   d. aspartato pág. 516
   e. tirosina pág. 513
   f. alanina pág. 511
9. Las dos primeras reacciones de la ruta bioquímica que convierte el NH_4^+ en urea (la formación de carbamoil fosfato y de citrulina) tienen lugar en la matriz mitocondrial. Las reacciones siguientes que convierten la citrulina en ornitina y urea tienen lugar en el citosol. Tanto la citrulina como la ornitina se transportan a través de la membrana mitocondrial interna mediante transportadores específicos.
11. Las personas con PKU carecen de actividad fenilalanina hidroxilasa (fenilalanina-4-monooxigenasa), de forma que no pueden sintetizar tirosina a partir de fenilalanina. La tirosina es, por lo tanto, un aminoácido esencial en estos pacientes.
13. El término *biciclo de Krebs* indica dos rutas de reacción cíclicas interconectadas. La desviación aspartato-arginosuccinato del ciclo del ácido cítrico es responsable de regenerar el aspartato que se necesita para el ciclo de la urea a partir de fumarato. La molécula que tienen en común los dos ciclos es el arginosuccinato.
15. En la ubiquinación, el mecanismo principal de degradación proteica, la ubiquitina (una hsp pequeña) se une covalentemente a residuos de lisina de una proteína con características estructurales como residuos de aminoácido oxidados, que la marcan para su destrucción. Una vez que la proteína se ha ubiquinado se degrada mediante proteasas en reacciones que requieren ATP.
17 Los siguientes compuestos proporcionan ácido úrico cuando se degradan: DNA, FAD y NAD^+. Todos ellos contienen purinas.

Preguntas de Razonar

1 El amoníaco puede utilizarse para eliminar el nitrógeno de desecho en determinadas especies acuáticas debido a que viven en el agua. Los efectos tóxicos del amoníaco, por lo tanto, disminuyen inmediatamente tras su eliminación en una gran cantidad de agua. Esta estrategia no es práctica para los mamíferos, que son animales terrestres que almacenan desechos líquidos para su eliminación intermitente. El amoníaco es muy soluble en los líquidos corporales y se acumularía hasta concentraciones tóxicas si no se convirtiera en una forma menos tóxica. Los efectos tóxicos del amoníaco, una base relativamente fuerte y un nucleófilo fuerte, son agotamiento de glutamato y α-cetoglutarato, inhibición del transporte de los aminoácidos y de la ATPasa dependiente de Na^+ y K^+; todos ellos contribuyen a la lesión cerebral.
3. Si falta cualquiera de las enzimas del ciclo de la urea, el amoníaco (el sustrato del ciclo que contiene nitrógeno) no puede metabolizarse. Si cualquiera de las enzimas es defectuosa (es decir, no cataliza su reacción a la velocidad adecuada), el amoníaco se metaboliza lentamente. En ambas circunstancias, la concentración de amoníaco del organismo es excesivamente elevada.
5. Se requiere la 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina (BH_4) en la síntesis de neurotransmisores como la noradrenalina y la serotonina, que se producen en el cerebro. Se requiere la BH_4 en la reacción catalizada por la tirosina hidroxilasa en la que la tirosina se hidroxila para formar L-dopa (un precursor de varios neurotransmisores, entre ellos la dopamina y la noradrenalina), y la reacción catalizada por la triptófano hidroxilasa en la que el triptófano se hidroxila para formar 5-hidroxitriptófano. La L-dopa y el 5-hidroxitriptófano deben suministrarse a las personas que carecen de la capacidad de sintetizar BH_4 debido a que las últimas moléculas no atraviesan la barrera hematoencefálica.
7. a. Grupos metileno ($-CH_2-$)
   b. Grupos metilo
   c. Grupos metilo
   d. Grupos metilo
9. La cafeína (trimetilxantina), que se encuentra en ambas bebidas, tiene una estructura semejante a la xantina, el precursor inmediato del ácido úrico. Algunas moléculas de cafeína se eliminan como ácido úrico metilado, una molécula con propiedades de solubilidad semejantes a las del ácido úrico. Recuerde que la gota está producida por la precipitación de ácido úrico en las articulaciones.

CAPÍTULO 16

Preguntas del Capítulo

16.1. En la Figura 8-17 se presentan varias series de componentes de la transducción de señales. El ejemplo más destacado es el glucagón (señal), el cAMP (mensajero) y la proteína quinasa (receptor).
16.2. a. El intestino se ocupa de la digestión del alimento y el transporte de los nutrientes a la sangre.
   b. El hígado tiene una función central en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y los aminoácidos, y controla y regula la composición de la sangre.
   c. Durante el ayuno o la inanición, el músculo esquelético proporciona aminoácidos a otros órganos. El músculo cardíaco es la característica estructural principal del corazón y es responsable del bombeo de la sangre que transporta nutrientes por todo el cuerpo.
   d. El tejido adiposo actúa como almacén de energía y en la producción de ácidos grasos para la generación de energía y glicerol, un sustrato de la gluconeogénesis hepática.
   e. El riñón filtra el plasma sanguíneo y regula el pH de la sangre.
   f. El cerebro dirige los procesos metabólicos del organismo e integra la información sensitiva que se requiere para obtener el alimento.
16.3. El cerebro interpreta el ayuno de larga duración o las dietas bajas en calorías como inanición. El cerebro responde dismi-

nuyendo la BMR. La mayoría de la energía procede de la oxidación de los ácidos grasos. La glucosa necesaria para los tejidos que dependen de la glucosa se genera por gluconeogénesis a expensas de la proteína muscular.

16.4. Al caer las concentraciones sanguíneas de glucosa y de insulina a los valores normales, se libera glucagón por el páncreas. El glucagón actúa sobre el hígado para evitar la hipoglucemia estimulando la glucogenólisis y la gluconeogénesis. El glucagón estimula la glucogenólisis desencadenando la síntesis de cAMP, el cual inicia una cascada de reacciones que conduce a la activación de la glucógeno fosforilasa. El aumento de la lipólisis, la hidrólisis de las moléculas de grasa, proporciona moléculas de glicerol que son sustratos de la gluconeogénesis.

16.5. La cortisona, un esteroide, no se degrada por el sistema digestivo. Por el contrario, la insulina, una proteína, se inactiva debido a que se degrada a sus aminoácidos componentes.

16.6. Las clases de interacciones no covalentes que participan en la unión reversible de una molécula señal y su receptor son los enlaces de hidrógeno, las interacciones hidrófobas y diversas clases de interacciones electrostáticas, como los puentes salinos.

16.7. Los niveles elevados de agresión, junto con la falta de sueño o los ciclos vigilia/sueño distorsionados (p. ej., de turnos) conducen a la elevación de la concentración de cortisol circulante. El cortisol disminuye la síntesis y la liberación de las hormonas tímicas, lo que da lugar a un desarrollo comprometido de los linfocitos T y a la disminución de la respuesta inmunitaria. La luz inhibe la producción de melatonina de forma que cuando las personas tienen un sueño inadecuado su concentración cae. Esto reduce la inhibición dependiente de melatonina de la liberación de CRH, lo cual amplifica el aumento del cortisol circulante. Por lo tanto, se potencia y se prolonga la inmunodepresión inducida por la agresión.

16.8. Las concentraciones elevadas de glucosa en sangre en los diabéticos sin tratar da lugar a la pérdida de cantidades crecientes de glucosa junto con agua en la orina, una condición que produce deshidratación. En ausencia de glucosa utilizable, el organismo degrada rápidamente grasas y proteínas para generar energía. De ahí la observación de Areteo de que en esta enfermedad están relacionados la excesiva pérdida de peso y orinar mucho.

16.9. Aproximadamente 100 000 (o 10^5) moléculas de la molécula diana (E_R) pueden activarse por una única molécula de hormona.

16.10. El cAMP se genera a partir del ATP por la adenilato ciclasa cuando una molécula de hormona se une a su receptor. La interacción entre el receptor y la adenilato ciclasa está intermediada por una proteína G_S. Como consecuencia de la unión de la hormona y el cambio conformacional resultante, el receptor interacciona con una proteína G_S cercana. Al unirse G_S al receptor, el GDP se disocia. Entonces, la unión de GTP a G_S permite que una de sus subunidades interaccione con la adenil ciclasa y la estimule, iniciando así la síntesis de cAMP. El cAMP debe degradarse rápidamente de forma que el sistema de señalización pueda controlarse con precisión.

16.11. La inhibición de la hidrólisis del GTP hace que la subunidad de la G_S continúe activando a la adenil ciclasa. En las células intestinales, esta actividad enzimática abre los canales de cloruro, produciendo la pérdida de grandes cantidades de iones cloruro y agua. La diarrea masiva que produce este proceso conduce a una rápida deshidratación y a la pérdida de electrólitos.

16.12. Las moléculas de nitroglicerina se hidrolizan en la sangre para dar NO. Éste relaja las células de la musculatura lisa de las paredes de los vasos sanguíneos. Se cree que el NO activa a la guanilato ciclasa, la cual estimula a continuación el secuestro intracelular de iones calcio que permiten a las células musculares relajarse.

16.13. Tanto el DAG como los ésteres de forbol estimulan la actividad de la proteína quinasa C, la cual impulsa el crecimiento y la división celular. Los ésteres de forbol proporcionan a las células iniciadas una ventaja de crecimiento sustancial sobre las células normales. Esta condición es una fase inicial de la carcinogenia

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La cetoacidosis es un trastorno en el que en la sangre se encuentran presentes grandes cantidades de cuerpos cetónicos.
   b. En la hiperlipoproteinemia, las concentraciones en sangre de lipoproteínas son elevadas.
   c. Las neurofisinas son proteínas empaquetadas con la vasopresina y la oxitocina en gránulos secretores que transportan estas hormonas por los axones desde el hipotálamo hasta la hipófisis posterior.
   d. Los factores de crecimiento son un conjunto de polipéptidos y proteínas que regulan el crecimiento, la diferenciación y la proliferación de diversas células.
   e. Los remanentes de los quilomicrones son quilomicrones de los que se han eliminado moléculas de triacilgliceroles.
   f. En la regulación por disminución, las moléculas receptoras de hormonas se internalizan por endocitosis.
3. a. La corticotropina estimula la síntesis de esteroides en la corteza suprarrenal.
   b. La insulina promueve efectos anabólicos generales, incluyendo la captación de glucosa por algunas células y la lipogénesis.
   c. El glucagón estimula la glucogenólisis y la lipólisis.
   d. La oxitocina estimula la contracción de la musculatura uterina.
   e. La LH estimula el desarrollo de las células de los ovarios y los testículos, y la síntesis de hormonas sexuales.
   f. La GnRH estimula la secreción de LH y FSH.
   g. La somatostatina inhibe la secreción de GH y TSH, así como la secreción de gastrina y glucagón.
   h. La vasopresina (u hormona antidiurética) participa en la regulación de la osmolaridad sanguínea.
   i. La FSH estimula la ovulación y la síntesis de estrógenos en los ovarios y el desarrollo de los espermatozoides en los testículos.
5. El NADPH, que se forma durante la ruta de las pentosas fosfato y las reacciones que catalizan la isocitrato deshidrogenasa y la enzima málica, se utiliza como agente reductor en una gran cantidad de reacciones de síntesis (p. ej., aminoácidos, ácidos grasos, esfingolípidos y colesterol). La degradación de algunas de estas moléculas (p. ej., ácidos grasos y los esqueletos carbonados de los aminoácidos) da lugar a la síntesis de NADH, una fuente importante de energía celular a través del sistema de transporte electrónico mitocondrial.
7. Los efectos de la acción hormonal incluyen cambios de la expresión de los genes (p. ej., aumento o descenso de la síntesis de proteínas específicas, incluyendo enzimas reguladoras) y la activación o inactivación de moléculas de enzima ya existentes.
9. Durante varias semanas tras el comienzo del ayuno las concentraciones sanguíneas de glucosa se mantienen por gluconeogénesis. Durante la mayor parte de este período, los aminoácidos que proceden de la degradación de las proteínas musculares son los principales sustratos de este proceso. Finalmente, al irse agotando el músculo, el cerebro cambia hacia los cuerpos cetónicos como fuente de energía. Por consiguiente, desciende la producción de urea (la molécula que se utiliza para eliminar los grupos amino de los aminoácidos).

11. Una consecuencia de la actividad física es la activación del sistema nervioso simpático, el cual estimula la secreción de adrenalina y noradrenalina por las glándulas suprarrenales. Estas hormonas posteriormente activan la lipasa de los adipocitos sensible a las hormonas, la cual cataliza la hidrólisis de las moléculas de triacilglicerol para formar glicerol y ácidos grasos que se utilizan para impulsar la contracción muscular.
13. Las funciones del riñón son: (1) eliminación de los productos hidrosolubles de desecho, (2) reabsorción de electrólitos, aminoácidos y azúcares del filtrado urinario, (3) regulación del pH y (4) regulación del contenido corporal de agua. En la diabetes mellitus está superada la capacidad del riñón para reabsorber la glucosa y ésta aparece en la orina. La presencia de glucosa en la orina compromete la función de recuperación de agua del riñón y se produce una deshidratación. Esto afecta mucho a la capacidad del riñón para mantener el equilibrio electrolítico y del pH.
15. El metabolismo de la glutamina y del glutamato genera amoníaco, el cual abandona el riñón en la orina, captando con él un protón. Este proceso, junto con el transporte activo de los protones a favor de un gradiente de sodio y dentro de los túbulos renales, ayuda a mantener el pH de la sangre en 7.4.

Preguntas de Razonar

1. La generación mantenida de energía a partir de las grasas requiere un gran aporte de intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Recuerde que el oxalacetato procede de la glucosa a través de las enzimas de la ruta glucolítica y de la piruvato carboxilasa.
3. El segundo mensajero es una molécula efectora que se sintetiza cuando se une una hormona (el primer mensajero). Estimula a la célula para que responda a la señal original. Los segundos mensajeros también permiten que se amplifique la señal.
5. El reconocimiento de un peligro inminente por los centros de la conciencia del cerebro da lugar a la descarga de adrenalina por el sistema nervioso simpático y la médula suprarrenal. La gran cantidad de glucosa y ácidos grasos que fluye a la sangre como consecuencia de la estimulación por la adrenalina de la glucogenólisis y la lipólisis tiene varios efectos sobre el organismo. Un efecto, las concentraciones elevadas de glucosa sanguínea, proporciona la energía que se requiere para los procesos rápidos de decisión del cerebro. Además, se requieren grandes cantidades de glucosa y ácidos grasos para una actividad física extenuante si la decisión que se toma es correr alejándose del peligro.
7. En la diabetes mellitus descontrolada la degradación masiva de las reservas de grasas da lugar a la producción de grandes cantidades de cuerpos cetónicos. Dos de los cuerpos cetónicos (ácido acetoacético y ácido β-hidroxibutírico) son ácidos débiles. La liberación de iones hidrógeno de un gran número de estas moléculas supera la capacidad de amortiguación del organismo.
9. El almacenamiento de moléculas de hormona ya formadas en vesículas secretoras permite una respuesta rápida de las células productoras a las señales metabólicas. Tan pronto como se recibe la señal adecuada las vesículas se fusionan con la membrana plasmática y se libera su contenido (por exocitosis) al torrente sanguíneo.

CAPÍTULO 17

Preguntas del Capitulo

17.1. De acuerdo con el dogma central de la biología molecular, el flujo de información en los seres vivos se resume en la secuencia



En este paradigma la información codificada en la secuencia de bases del DNA se perpetúa a sí misma a través de la replicación y se descodifica en forma de moléculas de RNA. El flujo de la información continúa al participar las moléculas de RNA en la síntesis de las proteínas, las moléculas que constituyen los componentes estructurales y catalíticos responsables del funcionamiento del organismo. El genoma es el conjunto completo de DNA de un organismo. El transcriptoma, el conjunto completo de los transcritos de RNA que se generan por una célula en condiciones específicas puede considerarse que son las instrucciones operativas de la célula en cada momento. El proteoma es el conjunto completo de las proteínas que fabrica y utiliza una célula. Algunas de estas proteínas son estructurales. Un subconjunto del proteoma son las proteínas catalíticas, las enzimas, que catalizan las reacciones que generan el conjunto completo de biomoléculas orgánicas, que recibe el nombre de metaboloma.

17.2. Las clases de interacciones no covalentes que estabilizan la estructura del DNA son las interacciones hidrófobas, los enlaces de hidrógeno, el apilamiento de bases y las interacciones electrostáticas. El efecto cremallera acumulativo de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases mantiene a las cadenas en la orientación complementaria correcta. El apilamiento paralelo de las bases casi planas es un factor estabilizante debido al efecto acumulativo de las fuerzas débiles de van der Waals.

En las interacciones electrostáticas la fuerza potencialmente desestabilizadora de las cargas de los grupos fosfato (repulsión entre las cargas negativas cercanas) se compensa por la unión de los iones magnesio y las moléculas policatiónicas como las poliaminas y las histonas.

17.3. El par de bases citosina-guanina con sus tres enlaces de hidrógeno es más estable que el par de bases adenina-timina. Cuantos más pb CG tenga una molécula de DNA más estable es. La estructura b, con el menor número de pb CG, se desnaturalizará primero.

17.4.
a. El etanol romperá los enlaces de hidrógeno en los pares de bases y desnaturalizará el DNA.
b. El calor, que rompe fácilmente los enlaces de hidrógeno, hará que se separen las cadenas del DNA y se desnaturalice.
c. El dimetilsulfato es un agente alquilante que puede producir mutaciones de transversión y transición.
d. El ácido nitroso desamina las bases.
e. La quinacrina es un agente intercalante que puede producir mutaciones de desplazamiento de marco.

17.5.
a. La cafeína es un análogo de las bases
b. El benzo[a]pireno es un agente no alquilante que se convierte fácilmente en una forma muy reactiva que forma aductos con las bases.
c. El cloruro de etilo es un agente alquilante.

17.6. El cerebro es especialmente sensible a la agresión oxidativa debido a que utiliza una mayor proporción de oxígeno que otros tejidos. Por consiguiente, la posibilidad de daño oxidativo es también elevada. Además, cuando la mayor parte de las células cerebrales se dañan irreversiblemente por las ROS, no pueden sustituirse. Además de los radicales hidroxilo, otras ROS que pueden contribuir a la agresión oxidativa en el cerebro son superóxido, peróxido de hidrógeno y oxígeno singlete.

17.7. En el DNA A, la forma deshidratada del DNA, los pares de bases no se encuentran en ángulos rectos con el eje de la hélice, sino que se inclinan 20° de la horizontal en comparación con el DNA B. La distancia entre los pares de bases adyacentes está ligeramente reducida con 11 pb por vuelta de hélice en lugar de los 10.4 pb que hay en la forma B. Cada vuelta de la doble hélice del DNA A se produce en 2.5 nm en lugar de los

3.4 nm del DNA B. Los diámetros del DNA A y del DNA B son 2.6 nm y 2.4 nm, respectivamente. El significado del DNA A no está claro. Se ha observado que su apariencia global se asemeja a los dúplex de RNA y a los híbridos RNA-DNA que se forman durante la transcripción.

Con un diámetro de 1.8 nm, el DNA Z es considerablemente más delgado que el DNA B. Está enrollado en una espiral a izquierdas con 12 pb por vuelta, cada una de las cuales se produce en 4.5 nm en lugar de los 3.4 nm que se observan en el DNA B. Los segmentos con bases alternativas púricas y pirimidínicas son los que dan con mayor probabilidad la configuración de DNA Z. En ésta, las bases se apilan con un patrón a izquierdas escalonado que hace que esta forma sea más aplanada y sin surcos y tenga apariencia de zig-zag. No está determinado cuál es el significado del DNA Z.

Los segmentos de DNA H (triple hélice) pueden formarse cuando una secuencia de polipurina forma enlaces de hidrógeno con una secuencia de polipirimidina. El DNA H que se ha observado se forma en condiciones de pH bajo, es posible por apareamiento de bases no convencional de Hoogsteen. El DNA H puede actuar en la recombinación.

17.8. En el cromosoma procariota existe un centro proteico al que está unido la molécula de DNA circular. Además, la proteína HU se une al DNA y facilita su curvatura y superenrollamiento. En los cromosomas eucariotas, el DNA forma complejos con las histonas para dar lugar a los nucleosomas. Las poliaminas son moléculas policatiónicas que se unen al DNA cargado negativamente, de forma que la última molécula pueda superar las repulsiones de carga entre los ovillos adyacentes durante el proceso de compresión.

17.9. El genoma es el conjunto total de la información genética de un organismo codificada en el DNA. Un cromosoma es una molécula de DNA normalmente formando complejo con determinadas proteínas. La cromatina es la forma parcialmente descondensada de los cromosomas eucariotas. Los nucleosomas son las unidades estructurales repetitivas de los cromosomas eucariotas formados por la interacción del DNA con las histonas. Un gen es una secuencia de DNA que codifica un polipéptido o una molécula de RNA.

17.10. La información que se utiliza para construir este modelo es la siguiente:

1. Las estructuras químicas y las dismensiones moleculares de la desoxirribosa, las bases nitrogenadas y el fosfato.
2. Los cocientes 1:1 de adenina:timina y guanina:citosina en el DNA aislado de una gran variedad de especies que había investigado Erwin Chargaff (**reglas de Chargaff**).
3. Los estudios de difracción de rayos X realizados por Rosalind Franklin que indicaban que el DNA es una molécula simétrica y probablemente una hélice.
4. El diámetro y paso de la hélice calculados por Wilkins y su colega Alex Stokes a partir de otros estudios de difracción de rayos X.
5. La demostración reciente de Linus Pauling de que las proteínas, otra clase de moléculas complejas, podían existir en una conformación helicoidal.

17.11. a. Las repeticiones en tándem son secuencias de DNA en las que se disponen múltiples copias cerca una de otra; las longitudes de las secuencias repartidas varían entre 10 pb y más de 2000 pb.

b. Los centrómeros son las estructuras que unen los cromosomas eucariotas al huso mitótico durante la mitosis y la meiosis.

c. El DNA satélite son secuencias de DNA dispuestas cerca unas de otras que forman una banda diferenciada cuando se digiere y centrifuga el DNA genómico; término original para las repeticiones en tándem.

d. Los intrones son secuencias interpuestas de DNA no codificador en un gen partido o interrumpido que se escinde durante la formación del mRNA.

e. Los exones son las regiones codificadoras en un gen eucariota partido o interrumpido.

f. Los microsatélites son secuencias centrales de DNA de 2 a 4 pb que están repetidas en tándem 10 a 20 veces.

g. La transposición es el movimiento de un segmento de DNA desde un lugar del genoma a otro.

17.12. Los genomas de los procariotas son sustancialmente menores que los de los eucariotas. Por ejemplo, los tamaños del genoma de *E. coli* y el ser humano tienen 4.6 Mb y 3000 Mb, respectivamente. Los genomas procariotas son compactos y continuos, es decir, hay pocas, si es que hay alguna, secuencias de DNA no codificadoras. Por el contrario, el DNA eucariota contiene cantidades enormes de secuencias no codificadoras. Otras características diferenciadoras del DNA procariota y eucariota son los ligamientos de los genes en operones en los procariotas y las secuencias interpuestas en los genes de los eucariotas.

17.13. a. mRNA
b. tRNA
c. mRNA
d. hnRNA

17.14. Las bases más frecuentes que se encuentran en el DNA son adenina, uracilo, citosina y guanina.

17.15. El mRNA es la clase de RNA que codifica la síntesis de polipéptidos. El rRNA junto con las proteínas ribosómicas son componentes de los ribosomas, las máquinas moleculares que sintetizan las proteínas. Cada clase de molécula de tRNA se une a un tipo específico de aminoácido y lo transporta al ribosoma para ensamblarlo en las proteínas.

17.16. La secuencia del DNA antisentido es 3′-CGTAAGCTTAACGTCTGAGGACGTTAAGCCCGTTA-5′; la secuencia del mRNA es 3′-CGUAAGCUUAACGUCUGAGGACGUUAAGCCGUUA-5′. La secuencia del RNA antisentido es 3′-GCAUUCGAAUUGCAGACUCCUGCAAUUCGGCAAU-5′

17.17. El sustrato de la transcriptasa inversa del virus es un genoma ssRNA. El producto de esta enzima es una cadena de DNA que es complementaria de la secuencia de ssRNA.

17.18. Tras absorberse una partícula vírica sobre la superficie de la célula bacteriana, el genoma vírico se inyecta al interior de la célula. Si la célula infectada por el virus entra en la fase lítica, su maquinaria molecular comienza la síntesis de los componentes de nuevos virus. Si, en su lugar, el genoma del virus se integra en el cromosoma de la célula hospedadora, la célula entra en la fase lisogénica. Posteriormente, la célula puede entrar en la fase lítica.

17.19. Tras unirse un retrovirus a la célula hospedadora y fusionarse su cubierta con la membrana plasmática, se libera al citoplasma la cápside vírica. La transcriptasa inversa del virus sintetiza una copia de ssDNA del genoma del virus. Esta actividad enzimática convierte también el ssDNA en una molécula de doble cadena. Posteriormente, el dsDNA se traslada al núcleo donde se integra en un cromosoma de la célula hospedadora. El provirus integrado se replica cada vez que la célula se divide. Tras activarse el provirus, se crean nuevos virus al sintetizarse vRNA y proteínas del virus, empaquetarse con la membrana celular, y liberarse de la célula hospedadora mediante un proceso de gemación.

17.20. La cápside es una cubierta proteica formada por moléculas proteicas entrelazadas que se denominan capsómeros.

17.21. Las clases de genomas que se encuentran en los virus son RNA o DNA de cadena única o doble.

17.22. En el dogma central original, el flujo de la información genética va en una dirección, esto es, de las moléculas de DNA a las de RNA, que luego dirigen la síntesis de proteínas. El diagrama alterado indica que el genoma RNA de algunos virus puede replicar sus genomas RNA (utilizando una actividad enzimática vírica que se denomina RNA polimerasa dirigida por el RNA) o experimentar una transcripción inversa (sintetizando DNA a partir de una secuencia de RNA).

17.23. En una prueba ELISA para el VIH, los antígenos del VIH (p. ej., gp41 o gp120) se unen a un soporte inerte, como una placa de laboratorio de plástico. Se añade al disco una alícuota del suero sanguíneo del paciente. Tras un corto período de tiempo se elimina el suero y se añade un anticuerpo antihumano unido a una enzima. Cuando se añade al disco el sustrato de la enzima, un cambio de color indica que el suero sanguíneo del paciente contiene anticuerpos contra el VIH. En la prueba de confirmación de transferencia Western para el VIH, las proteínas del virus se separan por electroforesis en gel de poliacrilamida. Posteriormente las proteínas se transfieren a tiras de nitrocelulosa mediante un procedimiento de transferencia. A continuación, las tiras de nitrocelulosa se incuban con el suero sanguíneo del paciente. Cualquier anticuerpo contra el VIH presente en el suero se une a las proteínas víricas. Luego las tiras se incuban con los anticuerpos antihumanos ligados a la enzima. Tras la adición del sustrato, se mide cualquier cambio de color. Se determina de forma precisa la cantidad de los anticuerpos contra el VIH del paciente (si hay algunos).

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. La genética es el estudio de la herencia.
   b. La replicación es el proceso por el que se copian las cadenas de DNA.
   c. La transcripción es la síntesis de RNA a partir de un DNA molde.
   d. En los polinucleótidos el «esqueleto» se crea por los enlaces 3′,5′-fosfodiéster que unen los grupos 5′-hidroxilo de los residuos de desoxirribosa a los grupos 3′-hidroxilo de la unidad azúcar de otro nucleótido.
   e. Un bacteriófago es un virus que ataca a las bacterias.
   f. De acuerdo con las reglas de Chargaff, existe una relación 1:1 de adenina a timina y guanina a citosina, con independencia de la fuente de DNA.
   g. Un palíndromo es una secuencia que se lee igual en ambas direcciones. En el DNA, un palíndromo es una repetición invertida que tiene el potencial de formar una estructura de horquilla.
   h. El apareamiento de bases de Hoogsteen es una forma de apareamiento de bases no convencional que permite la formación de DNA H triple.
   i. La proteómica es el análisis de los proteomas.
   j. La familia Alu es un grupo de secuencias cortas de DNA que se producen unas 500 000 veces en el genoma humano.
   k. El transcriptoma es un conjunto completo de moléculas de RNA que se producen dentro de una célula en condiciones especificadas.
   l. El DNA satélite es el nombre original para las repeticiones en tándem en las que múltiples copias de secuencias de DNA están colocadas juntas unas de otras.
   m. Un transposón es un segmento de DNA que transporta los genes necesarios para la transposición; algunas veces el término se reserva para los elementos transponibles que también pueden contener genes no relacionados con la transposición.
   n. El efecto hipocrómico es un descenso de la intensidad de absorción; se utiliza en el análisis de los ácidos nucleicos.
   o. Las huellas de DNA es una variación de la transferencia Southern; se comparan las bandas características de minisatélites de cada persona.
   p. El DNA STR son repeticiones en tándem cortas; secuencias de DNA repetidas con 2 a 4 pb.
3. El superenrollamiento es un proceso en el que el DNA se dobla y enrolla para aliviar la tensión, permitiendo a las cadenas de DNA empaquetarse en cromosomas compactos.
5. Los genomas eucariotas son más grandes que los de los procariotas. A diferencia de los genomas procariotas, formados enteramente por genes, la mayoría de las secuencias de DNA eucariota no parece tener funciones codificadoras. La mayoría de los genes eucariotas no son continuos (normalmente contienen intrones) al contrario que los procariotas.
7. Las moléculas de RNA se diferencian de las de DNA en los siguientes aspectos: (1) el RNA contiene ribosa en lugar de desoxirribosa, (2) las bases nitrogenadas del RNA se diferencian de las del DNA (p. ej., el uracilo sustituye a la timina y varias bases del RNA están modificadas de forma química) y (3) al contrario de la doble hélice del DNA, el RNA es de cadena única.
9. La transición del DNA B al DNA Z puede tener lugar cuando la secuencia de bases de los nucleótidos está formada por purinas y pirimidinas alternantes (p. ej., CGCGCG). Debido a que los nucleótidos alternos asumen diferentes conformaciones (sin o anti), estos segmentos de DNA forman una hélice a izquierdas. Los grupos fosfato del esqueleto de esta conformación de DNA zigzaguea, y de ahí el nombre de DNA Z.
11. De acuerdo con las reglas de Chargaff, si una muestra de DNA contiene un 21% de adenina, entonces también contiene un 21% de timina. Si el contenido de A-T es del 42%, entonces el contenido de G-C es del 58%. Por consiguiente, los procentajes de guanina y citosina en la muestra de DNA son ambos del 29%.
13. Las condiciones físicas que producen la desnaturalización del DNA son el calor, la concentración salina baja y los pH extremos.
15. La cadena de DNA complementario (escrita en la dirección 5′a 3′estándar es 5′-AACGATAACGGCCCCT-3′. La cadena de RNA es 5′-AACGAUAACGGCCCCU-3′.

Preguntas de Razonar

1. La principal diferencia estructural entre el DNA y el RNA es el grupo 2′-OH de la ribosa de las moléculas de RNA. En el DNA, que carece del grupo 2′-OH en el azúcar desoxirribosa, las cadenas complementarias unidas por enlaces de hidrógeno pueden adoptar fácilmente la forma B de doble hélice. Por el contrario, las regiones de doble cadena de las moléculas de RNA no pueden adoptar esta conformación debido a un impedimento estérico. En su lugar, adoptan una forma helicoidal A menos compacta en la que hay 11 pb por vuelta y los pares de bases se alejan 20° de la horizontal.
3. Las poliaminas están cargadas positivamente a pH 7, lo que hace que se unan a las cargas negativas del esqueleto de DNA. La unión de las poliaminas salva la repulsión mutua de las cadenas adyacentes de DNA, haciendo que las cadenas se junten más.
5. El DNA circular relajado con una cadena mellada es menos compacto que el DNA circular superenrollado y de esta forma tiene una densidad eficaz menor. Como consecuencia no emigrará tan lejos en el tubo de la centrífuga como el DNA superenrollado.
7. Las secuencias de bases de los nucleótidos y las secuencias de aminoácidos son «lenguajes» completamente diferentes, por lo que para «traducir» la información de una clase en la otra se nece-

sita un mecanismo complejo. En ausencia de pruebas en contra, no parece probable que la información que se expresa en las proteínas pueda utilizarse para dirigir la síntesis de los ácidos nucleicos.

9. Los núcleos y las mitocondrias se obtienen de forma separada a partir de los tejidos utilizando la homogeneización celular y luego la centrifugación en gradiente de densidad. Los ácidos nucleicos de cada fracción de estos orgánulos se extraen con la ayuda de detergentes, disolventes y proteasas (para eliminar las proteínas). El RNA se elimina mediante tratamiento de cada muestra con RNasa. El DNA de ambas clases de orgánulos se purifica más mediante centrifugación.
11. Cada célula está recibiendo constantemente información de su entorno. Las células se adaptan a las condiciones cambiantes al desencadenar la información en forma de nutrientes, hormonas, factores de crecimiento y otras clases de moléculas, cambios de sus mecanismos moleculares que, en última instancia, producen variaciones de la expresión de los genes. El transcriptoma, el conjunto de moléculas de mRNA producido en unas condiciones específicas, es una medida de la situación actual de la expresión de los genes.
13. En el lugar del delito, un forense experto recoge especímenes biológicos como sangre, pelo y saliva. Una vez trasladados estos especímenes al laboratorio, se analizan y comparan con el DNA de la víctima. Cualquier DNA que no pertenezca a la víctima se supone que pertenece a una persona o personas que estuvieron presentes durante el tiempo en que se cometió el delito. Si se identifica un sospechoso, su perfil de DNA (que se obtiene a partir de las células de un raspado de la mejilla o de una muestra de sangre ordenada por el tribunal) se compara con el obtenido en los especímenes del lugar del delito. Si no hay un sospechoso evidente, los especímenes del lugar del delito pueden compararse con los perfiles de DNA de las bases de datos estatales. Esta estrategia se ha aplicado con éxito en la identificación de personas que posteriormente se encontraron culpables no sólo de asesinatos recientes, sino también de aquellos «casos durmientes» en los que se han conservado los especímenes del lugar del delito. La tecnología que ha hecho posible esto son los análisis de PCR, de RFLP y de STR-DNA.

CAPÍTULO 18

Preguntas del Capítulo

18.1. a. La primasa es una RNA polimerasa que cataliza la síntesis de segmentos cortos de RNA denominados cebadores que se necesitan para generar un punto de partida para la síntesis de DNA.
b. Un cebador es un oligonucleótido corto que se requiere como punto de partida para la síntesis de un polinucleótido.
c. Las topoisomerasas son enzimas que impiden el enmarañamiento de las cadenas de DNA; alivian la tensión que se produce durante la síntesis de DNA más allá de la maquinaria de replicación.
d. La polimerasa es un complejo multienzimático grande que forma enlaces fosfodiéster durante la síntesis de polinucleótidos.
e. La proteína b es un componente de la DNA polimerasa III; una proteína de «deslizamiento de la pinza» que forma un anillo alrededor del DNA durante la replicación.

18.2. a. El replisoma es un complejo proteico grande formado por la pol III, el primosoma, y las helicasas que replican el DNA en *E. coli*.
b. El primosoma es un complejo multienzimático que participa en la síntesis de los cebadores de RNA en diversos puntos a lo largo de la cadena molde de DNA durante la replicación del DNA.
c. Un replicón es una unidad de un genoma que contiene un origen de replicación y regiones reguladoras que se requieren para la replicación.
d. La cadena de DNA que se sintetiza de forma continua en la dirección 5'a 3'durante la síntesis de DNA es la cadena conductora.
e. Un fragmento de Okazaki es alguno de los diversos segmentos cortos de oligonucleótidos que se sintetizan y posteriormente se unen en la cadena retardada simultáneamente con la síntesis continua de la cadena conductora.

18.3. La replicación comienza cuando los monómeros de DnaA se unen a oriC formando una estructura semejante a un nucleosoma. Esto necesita ATP y HU. Una fusión localizada permite la unión del complejo DnaB/DnaC. La disociación de DnaC permite a la helicasa DnaB desenrollar la hélice para preparar la replicación del DNA. El complejo DnaA se disocia, SSB mantiene separadas las cadenas sencillas y la horquilla de replicación está ya preparada para ensamblar el replisoma.

18.4. Brevemente, la replicación del DNA procariota consta del desenrollamiento del DNA, la formación del cebador de RNA, la síntesis del DNA que cataliza la DNA polimerasa y la unión por la DNA ligasa de los fragmentos de Okazaki. La replicación del DNA procariota se diferencia del proceso eucariota en que la replicación procariota es más rápida, los fragmentos de Okazaki son más largos, y normalmente hay un único origen de replicación por cromosoma (los eucariotas tienen muchos por cromosoma).

18.5. En la reparación por escisión, las secuencias cortas dañadas se escinden (p. ej., dímeros de timina) y se sustituyen con las secuencias correctas. Tras eliminar una endonucleasa la secuencia dañada de cadena sencilla, una actividad DNA polimerasa sintetiza una secuencia de sustitución utilizando como molde la cadena que no está dañada. En la reparación por fotorreactivación, una enzima fotorreactivadora utiliza la energía luminosa para reparar los dímeros de pirimidina. En la reparación recombinatoria se eliminan las secuencias dañadas. La reparación comporta un intercambio de un segmento adecuado de la molécula homóloga de DNA.

18.6. Cuando se utilizan grandes cantidades de antibióticos, las células bacterianas que poseen genes de resistencia (adquiridos mediante mutaciones espontáneas o mediante mecanismos de transferencia entre microorganismos como la conjugación, la transducción o la transformación) sobreviven y hasta medran. Debido a que la utilización de los antibióticos actúa como una presión selectiva, los organismos resistentes (en un tiempo un constituyente menor de la población microbiana) se hacen las células dominantes en su nicho ecológico.

18.7. La recombinación genética impulsa la diversidad de las especies. La recombinación general, un proceso en el que se intercambian segmentos de moléculas de DNA homólogas, se observa con mayor frecuencia durante la meiosis. En la recombinación específica de lugar, las interacciones proteína-proteína impulsan la recombinación de DNA no homólogo. La transposición es un ejemplo de recombinación específica de lugar en la que se mueven elementos genéticos de un lugar a otro del genoma.

18.8. a. La transposición es el movimiento de un trozo de DNA de un lugar del genoma a otro.
b. La conjugación es un apareamiento sexual no convencional entre las células bacterianas; una célula donadora transfiere un segmento de DNA a una célula receptora mediante un pilus especializado.

c. La transducción es la transferencia de DNA entre células bacterianas con intermediación de un bacteriófago.
d. La transformación tiene lugar cuando los fragmentos de DNA desnudo entran en una célula bacteriana y se introducen en el genoma bacteriano.
e. Un transposón es un segmento de DNA que contiene los genes que se requieren para la transposición.

18.9. La mayoría de las duplicaciones de los genes aparentemente son una consecuencia de accidentes durante la recombinación genética. Entre los ejemplos de causas posibles de duplicación de los genes se encuentran el entrecruzamiento desigual durante las sinapsis y la transposición. Tras duplicarse un gen, las mutaciones aleatorias y la recombinación genética introducen las variaciones.

18.10. Los genes marcadores son genes fácilmente detectables que se incorporan en vectores plásmidos. La detección del gen marcador en una célula de una población mixta de células indica que se ha transformado (ha incorporado el plásmido en su genoma).

18.11. La PCR comienza al añadir a la muestra calentada del DNA la polimerasa Taq, los cebadores y los ingredientes para la replicación del DNA. Al enfriarse la mezcla, los cebadores se unen a sus secuencias complementarias en ambos lados de la secuencia diana. Cada cadena sirve como molde para la replicación del DNA. Al final de este proceso, que se denomina *ciclo*, las copias de la secuencia diana se han duplicado. El proceso puede repetirse de forma indefinida, sintetizando un número extraordinario de copias. Tras 15 replicaciones, se han producido 32 768 (o 2^{15}) copias.

18.12. Las bibliotecas genómicas se producen en un proceso que se denomina **clonación de escopetazo**, en el que se digiere el genoma de forma aleatoria. El intervalo de tamaño de los fragmentos, que está determinado por la clase de enzima de restricción y las condiciones experimentales elegidas, debe ser compatible con el vector. Las bibliotecas de cDNA se producen a partir de moléculas de mRNA utilizando la transcriptasa inversa. Se utilizan para determinar los genes que se expresan en ese momento en una célula.

18.13. Un chip de DNA, o microserie, es un soporte sólido como un vidrio o plástico al que se han unido millares o centenas de millares de oligonucleótidos o fragmentos de ssDNA. El análisis de una microserie puede proporcionar información sobre la expresión de los genes.

18.14. a. La clonación de escopetazo es la fragmentación del DNA genómico mediante endonucleasas de restricción seleccionadas y la incorporación de los fragmentos en un vector elegido para crear una biblioteca.
b. Un cromosoma bacteriano artificial es un derivado de un plásmido grande de *E. coli* que se utiliza para clonar secuencias de DNA de hasta 30 kb.
c. La electroporación es el tratamiento de las células con una corriente eléctrica para estimular la captación de DNA ajeno.
d. Un vector es una molécula de DNA capaz de replicarse que se utiliza para transferir las secuencias de DNA ajeno a una célula hospedadora.
e. La tecnología del DNA recombinante es un conjunto de técnicas que se utilizan para cortar y juntar moléculas de DNA de orígenes diferentes.

18.15. a. Un operón es un conjunto de genes ligados que regula la misma región promotora.
b. Un promotor es una secuencia de DNA inmediatamente anterior a un gen que reconoce la RNA polimerasa y señala el punto de inicio y la dirección de la transcripción.
c. El espliceosoma es un complejo multicomponente que contiene RNA y proteínas que cataliza el corte y empalme del RNA.
d. La cadena de DNA que tiene la misma secuencia de bases que el RNA transcrito (con timina en vez de uracilo) es la cadena codificadora.
e. Las secuencias de consenso son el promedio de varias secuencias semejantes; representan el nucleótido más probable que puede encontrarse en cada posición de la secuencia; normalmente están asociadas con una función específica.

18.16. La RNA polimerasa I, que se encuentra en el nucléolo, transcribe los rRNA más grandes. Los precursores de los mRNA y la mayoría de los snRNA se transcriben por la RNA polimerasa II. La RNA polimerasa III es responsable de la transcripción de los precursores de los tRNA y del rRNA 5S.

18.17. Las bacterias pueden adquirir de forma permanente la capacidad para producir una toxina cuando el gen de la toxina vírica se incorpora en el cromosoma bacteriano o en un plásmido que se autorreplica. La comparación del grupo A actual de estreptococos con el organismo que produjo una enfermedad semejante en los años 1920 requiere la producción por PCR de un conjunto de sondas de DNA del organismo actual. Estas sondas se utilizan en una hibridación *in situ* para investigar en los especímenes conservados las semejanzas o diferencias entre los dos organismos.

18.18. a. La eucromatina es la forma menos condensada de la cromatina; tiene varios niveles de actividad de transcripción.
b. La heterocromatina es la forma más condensada de la cromatina; no tiene actividad de transcripción.
c. La amplificación de los genes es un proceso en el que se producen muchas copias mediante muchas rondas de replicación.
d. Un operador es una secuencia de DNA dentro de un operón que participa en la regulación a la que se puede unir una proteína represora.
e. Un represor es una proteína que se une al lugar operador, impidiendo así la transcripción.

18.19. a. Control de la traducción.
b. Control genómico.
c. Procesamiento del RNA.
d. Control genómico.

18.20. Se ha demostrado que el fitocromo intermedia numerosos procesos vegetales inducidos por la luz, por lo que parece razonable suponer que lo hace en parte interactuando con elementos de respuesta a la luz (ERL) de los genomas de las células vegetales. Presumiblemente, el fitocromo influye sobre la expresión de los genes, uniéndose bien solo o como parte de un complejo, a diversos ERL cuando la luz activa su cromóforo.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. a. Los quimiorreceptores son receptores proteicos sobre la superficie externa de la membrana plasmática de una célula o en sus cercanías que une sustancias químicas específicas o nutrientes desencadenando de esta manera la quimiotaxia.
b. Los genes estructurales son segmentos de DNA que codifican polipéptidos.
c. La recombinación es el reordenamiento de secuencias de DNA con el intercambio de segmentos de moléculas diferentes.
d. En la replicación semiconservadora, cada molécula nueva de DNA posee una cadena nueva y una cadena vieja.
e. Un replisoma es el complejo proteico que replica las moléculas de DNA.

f. OriC es el lugar de iniciación de la replicación en el cromosoma de *E. coli*.
g. La transcripción es el proceso en el que se sintetiza una molécula de RNA con una secuencia de bases complementaria a la cadena molde de DNA.
h. Los protooncogenes son genes normales que codifican moléculas que participan en el control del ciclo celular.
i. Los espliceosomas son grandes complejos formados por proteínas y snRNA en los que durante el procesamiento del RNA los exones se cortan y empalman.
j. Los oncogenes son protooncogenes mutados que impulsan la formación de tumores cancerosos.

3. El experimento de Meselson-Stahl dio una única banda de DNA en la centrifugación en gradiente de CsCl tras una ronda de división celular. Su densidad era intermedia entre el DNA pesado y ligero. Esto sólo podía tener lugar si el dsDNA recién sintetizado tuviera una cadena «ligera» vieja y una cadena «pesada» nueva.
5. a. La helicasa es una actividad enzimática que alivia la tensión generada por el superenrollamiento más allá de la maquinaria de replicación.
   b. La primasa es una actividad enzimática que cataliza la síntesis de cebadores de RNA.
   c. La DNA polimerasa es una actividad enzimática que cataliza varias reacciones durante la replicación del DNA.
   d. La DNA ligasa forma enlaces fosfodiéster entre los fragmentos de DNA recién sintetizados.
   e. La topoisomerasa es una actividad enzimática que impide el enmarañamiento de las cadenas de DNA durante la replicación del DNA.
   f. La DNA girasa facilita la separación de las cadenas de DNA durante la replicación procariota.
7. a. Las ROS pueden producir roturas de una cadena o de doble cadena, dímeros de pirimidina y la pérdida de bases púricas y pirimidínicas.
   b. Debido a que la cafeína es un análogo de base de la timina puede producir mutaciones de transición.
   c. Los agentes alquilantes pequeños se unen a los átomos de nitrógeno de las purinas y pirimidinas, desestabilizando los enlaces glucosídicos (conduciendo a despurinación), interfiriendo con los enlaces de hidrógeno y promoviendo mutaciones de transversión y transición.
   d. Los agentes alquilantes grandes tienen los mismos efectos que los agentes alquilantes pequeños, pero además se comportan igual que los agentes intercalantes, lo que conduce a mutaciones de desplazamiento de marco y rotura de la cadena de DNA.
   e. El ácido nitroso desamina las bases. Por ejemplo, la citosina se convierte en uracilo.
   f. Los agentes intercalantes producen mutaciones de deleción o de inserción.
9. En la reparación por escisión, un conjunto de enzimas eliminan los nucleótidos dañados y los sustituyen por los correctos. La reparación por fotorreactivación utiliza la luz para reparar los dímeros de timina. En la reparación recombinatoria, un mecanismo que puede eliminar determinados tipos de secuencias dañadas de DNA que no se han reparado antes de la replicación, las cadenas progenitoras sin dañar se recombinan dentro del hueco que queda tras eliminarse la secuencia dañada.
11. La mayoría de las mutaciones son silenciosas. De las que afectan al funcionamiento del organismo, la mayoría son perjudiciales debido a la naturaleza compleja de los procesos vivos. El cambio de las propiedades de alguno de los miles de productos de los genes es potencialmente perjudicial. Sólo en ocasiones poco frecuentes una mutación mejora la viabilidad de un organismo individual.
13. En la transposición replicativa, una copia replicada de un elemento transponible se inserta en una localización nueva del cromosoma en un proceso en el que se produce la formación de un intermediario que se denomina cointegrado. En la transposición arreplicativa, no se produce la replicación de la secuencia, es decir, el elemento transponible se corta y empalma fuera de su lugar donador y se inserta en el lugar diana. El lugar donador debe repararse.
15. Debido a que el DNA se encuentra expuesto constantemente a procesos perjudiciales, su integridad estructural depende en gran medida de mecanismos eficaces de reparación. La vida de un organismo depende de la salud de sus células constituyentes, que a su vez depende de la expresión de la información genética de forma oportuna y precisa. Por consiguiente, la capacidad de los organismos de una especie para mantener la integridad de las moléculas de DNA es un factor importante en la determinación de la vida.
17. Los genes marcadores son útiles en la tecnología del DNA recombinante debido a que se conoce su función y su presencia, que indica que se ha producido un suceso recombinatorio exitoso, se detecta con facilidad. Por ejemplo, un gen de resistencia a antibióticos, que codifica la síntesis de una sustancia que proporciona protección a una bacteria de los efectos de un antibiótico, permite el crecimiento de células recombinantes en un medio que contiene ese antibiótico. Las células que no contienen el gen marcador, es decir, aquellas en las que no se encuentra presente el DNA recombinante, no sobreviven.
19. a. Los factores de transcripción son proteínas que regulan o inician la síntesis de RNA al unirse a secuencias específicas de DNA que se denominan elementos de respuesta.
   b. La RNA polimerasa es un componente de un grupo de enzimas que transcriben una secuencia de DNA en un producto RNA.
   c. Un promotor es una secuencia de DNA inmediatamente anterior a un gen que reconoce una RNA polimerasa y que señala el punto de inicio y la dirección de la transcripción.
   d. Un factor sigma es una proteína bacteriana que facilita la unión de la enzima central de la RNA polimerasa al lugar de iniciación durante la transcripción.
   e. Un potenciador es una secuencia de DNA eucariota que puede aumentar la expresión de un gen.
   f. La caja TATA es una secuencia de consenso del DNA eucariota que se encuentra dentro de los promotores de la polimerasa II.
21. En los genomas relativamente sencillos, como los de las bacterias, los operones proporcionan un mecanismo adecuado para regular los genes. Las proteínas que se requieren en la misma ruta metabólica o proceso funcional se sintetizan juntas debido a que el mismo promotor controla sus genes.

Preguntas de Razonar

1. En el experimento de Meselson-Stahl **todo** el nitrógeno era N^{15}. Para conseguir el mismo efecto con un isótopo del carbono, todo el carbono del medio debería ser isotópicamente puro en ambas fases del experimento. Esto sería muy caro.
3. La replicación del DNA se calcula de la siguiente forma:

$$\frac{150\,000\,000 \text{ pares de bases}}{50 \text{ bases/s}} = 3 \times 10^6 \text{ s} = 34.5 \text{ días}$$

   Por consiguiente, para esta replicación del DNA se requiere aproximadamente un mes. La síntesis del DNA eucariota es significativamente más rápida de lo esperado debido a que cada cromosoma contiene muchas unidades de replicación (replicones).
5. El gas mostaza entrecruza las cadenas del DNA con enlaces covalentes permanentes.

7. Recuerde que los ésteres de forbol mimetizan la acción del DAG, el metabolito normal de las células que activa la proteína quinasa C (PKC). La PKC inicia una cascada de fosforilación que da lugar a la activación de numerosas moléculas que participan en el crecimiento y la división celular, incluyendo jun y fos, que posteriormente se combinan para formar AP-1. Éste es un factor de transcripción cuya presencia estimula la división celular. Su formación hace que una célula afectada posea una ventaja de crecimiento sobre las células cercanas. Debido a que los ésteres de forbol son promotores de tumores, cualquier exposición a ellos aumenta el riesgo de que las células iniciadas puedan progresar hacia un estado canceroso.
9. Debido a que el gen Rb codifica un supresor de tumor, el retinoblastoma sólo se produce cuando se han dañado o perdido ambas copias. Normalmente se requiere un período de tiempo largo para que las mutaciones aleatorias produzcan esta circunstancia. En el retinoblastoma hereditario, en el que una persona afectada sólo posee sólo un gen Rb funcional, el tiempo necesario para que una mutación aleatoria inactive el segundo gen Rb es significativamente menor que el que se requiere para la inactivación de ambos genes, que produce la versión no hereditaria de la enfermedad.
11. La amplificación génica, la duplicación selectiva de determinados genes, puede tener lugar por un acontecimiento intermediado por una transcriptasa inversa. Tras la creación de uno o varios cDNA a partir de un mRNA se produce la inserción de estas secuencias en el genoma.

CAPÍTULO 19

Preguntas del Capítulo

19.1. La respuesta d es el proceso de traducción.

19.2. a. Un codón es una secuencia de tres nucleótidos del mRNA que dirige la incorporación de un aminoácido durante la síntesis de proteínas o que actúa como una señal de comienzo o de parada.
b. La degeneración del código señala que dos o varios codones codifican el mismo aminoácido.
c. El marco de lectura es un conjunto de secuencias de tripletes de bases contiguas de una molécula de mRNA.
d. Un marco de lectura abierto es un conjunto de secuencias de tripletes de bases de una molécula de mRNA que no contiene un codón de parada.
e. Un código universal significa que las señales codificadoras de los aminoácidos para la síntesis de proteínas son iguales en todos los seres vivos.

19.3. La secuencia de aminoácidos del comienzo del polipéptido es Met-Ser-Pro-Thr-Ala-Asp-Glu-Gly-Arg-Arg-Trp-Leu-Ile-Met-Phe. Las clases de mutaciones en las secuencias alteradas de mRNA son (a) inserción de una base, (b) pérdida de una base, (c) inserción de dos bases, (d) pérdida de tres bases. Las consecuencias de estas mutaciones son secuencias de aminoácidos alteradas de los polipéptidos que se producen a partir del mRNA. En (a), (b) y (c) se produce un desplazamiento del marco. Por lo tanto, las secuencias de aminoácidos a partir de la mutación son diferentes. En (d) no se produce un desplazamiento del marco debido a que se pierden tres bases. En este caso, la única diferencia entre el polipéptido normal y la versión mutada es la pérdida de un único aminoácido.

19.4. Suponiendo que la secuencia de DNA que se da es la cadena codificadora, la secuencia de mRNA es 5′-GGUUUA-3′y los anticodones son 5′-UAA-3′. Si la secuencia de DNA es la cadena molde, la secuencia de mRNA es 5′-UAAACC-3′y los anticodones son 5′-GGU-3′y 5′-UUA-3′.

19.5. Las posibles elecciones para las secuencias de bases codones en el mRNA para el péptido son:

Tyr	Leu	Thr	Ala
5′-UAU-3′	CUU	ACU	GCU
UAC	CUC	ACC	GCC
	CUA	ACA	GCA
	CUG	ACG	GCG
	UAA		
	UUG		

Las posibles elecciones de las secuencias de DNA que codifican el péptido son:

Tyr	Leu	Thr	Ala
3′-ATA-5′	GAA	TGA	CGA
ATG	GAG	TGG	CGG
	GAT	TGT	CGT
	GAC	TGC	CGC
	AAT		
	AAC		

Las posibles elecciones de los anticodones de los tRNA que codifican el péptido son:

Tyr	Leu	The	Ala
3′-AUA-5	GAA	UGA	CGA
AUG	GAG	UGG	CGG
	GAU	UGU	CGU
	GAC	UGC	CGC
	AAU		
	AAG		

19.6. Las aminoacil tRNA sintetasas unen correctamente cada aminoácido a su tRNA adecuado y corrigen la prueba del producto.

19.7. a. La translocación es el movimiento del ribosoma a lo largo del mRNA durante la traducción.
b. La terminación es la fase de la traducción en la que el codón de parada termina la traducción y se libera del ribosoma el polipéptido recién sintetizado.
c. La elongación es la fase de la traducción en la cual la cadena polipeptídica crece un residuo de aminoácido cada vez.
d. Un polisoma es una molécula de mRNA con varios ribosomas unidos.
e. Los factores de liberación son proteínas que participan en la terminación de la traducción.

19.8. Las proteínas que participan en la iniciación de la síntesis de proteínas procariota son: IF-1 (se une al lugar A de la subunidad 30S, bloqueándola durante la iniciación), IF-2 (se une a la subunidad 30S y promueve la unión del tRNA iniciador al codón de iniciación del mRNA) e IF-3 (impide que la subunidad 30S se una prematuramente a la subunidad 50S).

19.9. a. Enlace amida.
b. Enlace fosfodiéster
c. Enlaces de hidrógeno

19.10. La subunidad grande contiene el lugar catalítico para la formación del enlace peptídico. La subunidad pequeña sirve como guía para los factores de traducción que se requieren para regular la síntesis de proteínas. Cuando se unen las dos subunidades forman una maquinaria molecular que polimeriza los aminoácidos en una secuencia que especifica la secuencia de bases de la molécula de mRNA.

19.11. La formación de un derivado ADP-ribosilado de eEF-2 afecta a la estructura tridimensional de este factor proteico. Presumiblemente, la síntesis de proteínas se detiene debido a que se altera la capacidad de eEF-2 para interaccionar con uno o varios componentes ribosómicos o unirse a ellos.

19.12. Las principales clases de modificaciones posteriores a la traducción en los eucariotas son la ruptura proteolítica (hidrólisis de enlaces peptídicos específicos), la glucosilación (unión de

residuos de azúcar a residuos de aminoácido específicos de la proteína), la hidroxilación (unión de grupos OH a residuos de prolina y lisina), la fosforilación (adición de grupos fosfato a residuos de aminoácido específicos de la proteína), la modificación lipófila (unión covalente de grupos lipídicos a una proteína), la metilación (unión de grupos metilo), la formación de enlaces disulfuro (formación de enlaces –S-S- entre residuos de cisteína) y el corte y empalme proteico (se elimina un segmento específico del polipéptido y los extremos que quedan se unen covalentemente mediante un enlace amida).

19.13. Para asegurar que las proteínas acaban en el lugar adecuado para su función de una forma oportuna y predecible, es necesario disponer de un mecanismo de direccionamiento. El proceso de señalización comienza con secuencias señal específicas, que determinan dónde se debe completar la traducción. Las secuencias específicas de localización y/o la modificación posterior a la traducción de la proteína producto aseguran la entrega de la proteína a su lugar adecuado.

19.14. a. El péptido señal es una secuencia corta que suele encontrarse cerca del amino terminal de un polipéptido naciente que determina su destino en la célula.
b. La proteína de atraque es un heterodímero que ayuda en la unión de los ribosomas al RER.
c. La partícula de reconocimiento de la señal es un complejo molecular grande que consta de seis proteínas y una molécula pequeña de RNA que se une al ribosoma y detiene temporalmente la traducción.
d. El translocón es una proteína integral de membrana que intermedia la translocación del polipéptido a través de una membrana o dentro de ella.
e. La translocación posterior a la traducción tiene lugar cuando los polipéptidos que acaban de sintetizarse se transportan a través de la membrana de un orgánulo (mitocondria, cloroplasto, lisosoma) con la ayuda de una o varias secuencias señal y proteínas accesorias.

19.15. Los principales mecanismos que utilizan los eucariotas para controlar la traducción son la exportación de los mRNA (la transcripción y la traducción están separadas físicamente; puede bloquearse de forma selectiva la exportación de los mRNA procesados), la estabilidad de los mRNA (los mRNA tienen varias secuencias desestabilizantes que afectan a la longevidad de la molécula, es decir, su susceptibilidad a las nucleasas), el control negativo de la traducción (la traducción de algunos RNA se bloquea específicamente por la unión de proteínas represoras cerca de los extremos 5′), la fosforilación del factor de iniciación (la fosforilación del eIF-2 aumenta la tasa de traducción de determinados mRNA) y el desplazamiento del marco de la traducción (determinados RNA poseen información estructural que si se activa da lugar a un cambio +1 o –1 del marco de lectura; esto permite formar más de un polipéptido con un único mRNA).

19.16. Una preproproteína es el precursor inactivo de una proteína con un péptido señal eliminable. Una proproteína es una proteína precursora inactiva. Una proteína es un producto de la traducción totalmente funcional.

19.17. Tras la síntesis del precursor de la plastocianina en el citoplasma, la primera señal importante intermedia el transporte de la proteína al estroma del cloroplasto. Tras eliminar esta señal una proteasa, una segunda señal importante intermedia la transferencia de la proteína a la luz tilacoide. La plastocianina une a continuación un átomo de cobre, se pliega en su estructura tridimensional final, y se asocia con la membrana tilacoide.

Preguntas del final del Capítulo

Preguntas de Revisión

1. El código genético es degenerado (varios codones tienen el mismo significado), específico (cada codón especifica sólo un aminoácido) y universal (con unas pocas excepciones, cada codón siempre especifica el mismo aminoácido). Además, el código genético no es solapante y no tiene puntuación (el mRNA se lee como una secuencia codificadora continua).
3. Las reacciones secuenciales que se producen en el lugar activo en la síntesis del aminoacil-tRNA son: (1) formación de aminoacil-AMP, que contiene un enlace anhídrido mixto de energía elevada y (2) unión del grupo aminoacilo a su tRNA específico.
5. Las diferencias principales entre la traducción procariota y eucariota son la velocidad (el proceso procariota es significativamente más rápido), la localización (el proceso eucariota no está acoplado directamente con la transcripción como lo está la traducción procariota), la complejidad (debido a sus formas de vida complejas, los eucariotas poseen mecanismos complejos para regular la síntesis de proteínas, p. ej., la traducción eucariota implica un número significativamente mayor de factores proteicos que la traducción procariota) y las modificaciones posteriores a la traducción (las reacciones eucariotas parecen ser considerablemente más complejas y variadas que las que se observan en los procariotas).
7. La corrección de pruebas es un mecanismo que garantiza que el apareamiento correcto codón-anticodón tiene lugar en el lugar A de los ribosomas. En los eucariotas, el eEF-1α participa en la unión de los aminoacil-tRNA al lugar A. Cuando tiene lugar el apareamiento correcto, el eEF-1α hidroliza su GTP unido y a continuación sale del ribosoma. Cuando no se produce el apareamiento correcto, el complejo eEF-1α-GTP-aminoacilo abandona el lugar A, evitando de esta forma la incorporación de aminoácidos incorrectos.
9. Una partícula de reconocimiento de la señal (SRP) es un gran complejo formado por proteínas y RNA que se une a un ribosoma que ha comenzado a traducir un polipéptido que posee un componente péptido señal. Una vez unida la SRP al ribosoma, la traducción se detiene temporalmente. Entonces, la SRP intermedia en la unión del ribosoma a las proteínas de atraque sobre la superficie de una membrana (p. ej., membrana del RER). La traducción vuelve a comenzar y el polipéptido creciente se inserta en la membrana.
11. Las principales diferencias entre los mecanismos de control de la traducción procariota y eucariota están relacionadas con la complejidad de la expresión de los genes eucariotas. Las características que diferencian a la traducción eucariota son la exportación de los mRNA (separación espacial de la transcripción y la traducción), la estabilidad de los mRNA (pueden modularse las semividas de los mRNA), el control negativo de la traducción (puede bloquearse la traducción de determinados mRNA por la unión de proteínas represoras específicas), la fosforilación del factor de iniciación (las tasas de traducción de los mRNA se alteran por determinadas circunstancias cuando se fosforila el eIF-2) y el desplazamiento del marco de la traducción (determinados mRNA pueden desplazar el marco de forma que se sintetiza un polipéptido diferente).
13. Uno de los problemas más significativos que se asocian con la predicción de la estructura tridimensional de un polipéptido en base únicamente a su estructura primaria es que los cálculos que se basan en las fuerzas que impulsan los procesos de plegamiento (p. ej., rotaciones de enlace, consideraciones de energía libre y comportamiento de los aminoácidos en ambientes acuosos) son extraordinariamente complejos.

15. a. El direccionamiento es un conjunto de mecanismos que dirigen a los polipéptidos recién sintetizados hacia sus localizaciones celulares correctas.
    b. El barrido es un mecanismo que utilizan los ribosomas eucariotas para localizar un lugar de inicio de la traducción sobre un mRNA.
    c. Un codón es un secuencia de bases triplete en un mRNA que especifica la incorporación de un aminoácido específico en una cadena polipeptídica en crecimiento durante la traducción o que actúa como señal de comienzo o de parada.
    d. Un marco de lectura es un conjunto de codones tripletes contiguos.
    e. Las chaperonas moleculares son moléculas que colaboran en el plegamiento y el direccionamiento de las proteínas.
    f. El intercambio disulfuro es un mecanismo que facilita la formación de puentes disulfuro en las proteínas recién sintetizadas.
    g. Determinadas aminoacil-tRNA sintetasas poseen un segundo lugar activo, el lugar de corrección de pruebas, que une un tRNA específico si está unido de forma covalente a un aminoácido incorrecto. Tras esta unión, el enlace tRNA-aminoácido se hidroliza.
    h. Los péptidos señal son secuencias peptídicas cortas que determinan el destino de un polipéptido, por ejemplo, dirigen su inserción en una membrana.
    i. La glucosilación es un mecanismo posterior a la traducción mediante el cual grupos de hidratos de carbono se unen de forma covalente a los polipéptidos.
    j. En la regulación negativa de la traducción, la traducción de un mRNA específico puede bloquearse si se une una proteína específica a una secuencia cerca de su extremo 5′.
17. Las moléculas de tRNA son moléculas adaptadoras debido a que se utilizan para unirse a un aminoácido específico y luego colocan esas moléculas en el ribosoma de acuerdo con el código en la secuencia de un mRNA. En otras palabras, sirven de puente entre el hueco del código de bases de los ácidos nucleicos y la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos.

Preguntas de Razonar

1. A pesar de las considerables diferencias entre las especies con relación a las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de las proteínas ribosómicas y del RNA, respectivamente, las estructuras tridimensionales globales de estas moléculas son notablemente semejantes. Esta semejanza se debe presumiblemente a la presión selectiva elevada. En otras palabras, la función ribosómica es un factor tan importante de la viabilidad de las especies que la evolución ha conservado su estructura terciaria.
3. Cuando se producen errores en la unión aminoácido-tRNA, suelen ser el resultado de semejanzas de la estructura de los aminoácidos. Varias aminoacil-tRNA sintetasas poseen un lugar independiente de corrección de pruebas que une los productos aminoacil-tRNA incorrectos y los hidroliza.
5. Una posible secuencia de codones de la secuencia peptídica es GGUAGUUGUAGAGCU. El número de codones posible para los aminoácidos de esta secuencia peptídica es como sigue: glicina (4), serina (6), cisteína (2), arginina (6) y alanina (4). El número total de secuencias de codones posible para esta secuencia peptídica es por lo tanto 1152.
7. Se requieren cinco enlaces fosfato de energía elevada para incorporar cada aminoácido en un polipéptido (3 GTP y 2 ATP). La polimerización de 200 aminoácidos requiere 600 GTP y 400 ATP.
9. Las reacciones de modificación posteriores a la traducción preparan a los polipéptidos para sus funciones específicas y los dirigen a lugares celulares o extracelulares específicos. Entre los ejemplos de estas modificaciones están el procesamiento proteolítico (p. ej., eliminación de péptidos señal), la glucosilación, la metilación, la fosforilación, la hidroxilación, las modificaciones lipófilas (p. ej., N-miristoilación y prenilación) y la formación de enlaces disulfuro.
11. Mientras que se puede ir directamente y previsiblemente desde una secuencia de nucleótidos a una y sólo una secuencia de aminoácidos, la inversa no es cierto debido a la degeneración del código genético.
13. Las preproproteínas contienen secuencias señal que las dirigen hacia el RE para su translocación y al Golgi para su modificación. La rotura de una proproteína inactiva y otros procesos de modificación posteriores a la traducción aseguran que la proteína sólo sea activa cuando se ha dirigido a su lugar de funcionamiento.
15. Un ribosoma de dos subunidades es esencial para garantizar que todos los elementos que se requieren se encuentran en su lugar antes de que comience el proceso de traducción. Éste es un proceso físico de ordenación muy semejante al de una línea de ensamblaje; las partes deben colocarse en su lugar antes de que comiencen a funcionar las actividades enzimáticas.

Glosario

Abiogénesis. Mecanismo por el cual la materia inanimada se transformó en la Tierra primitiva en los primeros organismos vivos primitivos.
Acetal. Familia de compuestos orgánicos con la fórmula general RCH $(OR')_2$. Formados a partir de la reacción de un hemiacetal con un alcohol.
Acetosis hiperglucémica hiperosmolar. Deshidratación grave en los diabéticos no dependientes de insulina. Producida por concentraciones de glucosa persistentemente elevadas.
Ácido. Molécula que puede donar iones hidrógeno.
Ácido aldárico. Producto que se forma cuando se oxidan los grupos aldehído y CH_2OH de un monosacárido.
Ácido aldónico. Producto en el que está oxidado el grupo aldehído de un monosacárido.
Ácido conjugado. El catión (o molécula) que se produce cuando una base reacciona con un protón.
Ácido débil. Ácido orgánico que no se disocia totalmente en agua.
Ácido graso. Ácido monocarboxílico de cadena larga que contiene un número par de átomos de carbono.
Ácido graso esencial. Ácido linoleico y linolénico que deben suministrarse en la alimentación ya que no puede sintetizar el organismo.
Ácido graso no esencial. Ácido graso que puede sintetizar el organismo.
Ácido nucleico. Macromolécula formada por nucleótidos. El DNA y el RNA son ácidos nucleicos.
Ácido urónico. Producto que se forma cuando se oxida el grupo CH_2OH terminal de un monosacárido.
Acidosis. Trastorno en el que el pH de la sangre se encuentra por debajo de 7.35 durante un tiempo prolongado.
Actividad específica. Medida de la actividad enzimática. Número de unidades internacionales (UI) por miligramo de proteína (1 UI es la cantidad de enzima que produce 1 μmol de producto por minuto).
Adición aldólica. Reacción entre dos moléculas de aldehído (o dos moléculas de cetona) en la que se forma un enlace entre el carbono α de uno y el carbono carbonilo del otro.
Aducto. Producto de una reacción de adición.
Aerobio estricto. Organismo que es totalmente dependiente del oxígeno para la producción de energía.
Agresión oxidativa. Producción excesiva de especies reactivas de oxígeno.
Alcaloide. Clase de molécula natural que tiene uno o más anillos con nitrógeno; muchos de los alcaloides poseen efectos medicinales o fisiológicos.
Alcalosis. Trastorno en el que el pH de la sangre se encuentra por encima de 7.45 durante un tiempo prolongado.
Alditol. Azúcar alcohol; producto que se obtiene cuando se reduce el grupo aldehído o cetona de un monosacárido.
Aldosa. Monosacárido con un grupo funcional aldehído.
Alquilación. Introducción de un grupo alquilo en una molécula.
Ametopterina. Análogo estructural del folato que se utiliza para tratar varios tipos de cáncer; también se denomina metotrexato.
Amilopectina. Tipo de almidón vegetal; un polímero ramificado que contiene enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$.
Amilosa. Tipo de almidón vegetal; cadena no ramificada de residuos de D-glucosa ligados con enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$.
Amina biógena. Derivado de aminoácido que actúa como neurotransmisor (p. ej., el GABA y las catecolaminas).
α-Aminoácido. Molécula en la que el grupo amino está unido al átomo de carbono (carbono α) inmediatamente adyacente al grupo carboxilo.
Aminoácido cetogénico. Molécula cuyo esqueleto carbonado es un sustrato de la síntesis de ácidos grasos y cuerpos cetónicos.
Aminoácido esencial. Aminoácido que no puede sintetizar el organismo y por tanto debe suministrarse con el alimento.
Aminoácido no esencial. Aminoácido que puede sintetizar el organismo.
Aminoácido glucogénico. Molécula cuyo esqueleto carbonado es un sustrato de la gluconeogénesis.
Aminoácido ramificado. Perteneciente a un grupo de aminoácidos esenciales con esqueletos carbonados ramificados (leucina, isoleucina y valina).
Amortiguador. Solución que contiene un ácido o base débil y su sal, y que soporta grandes cambios de pH cuando se añaden ácidos o bases fuertes.
Anabolismo. Rutas de biosíntesis que requieren energía.
Anaerobio. Que se produce en ausencia de oxígeno molecular.
Anaerobio estricto. Organismo que sólo prolifera en ausencia de oxígeno
Anaerobio facultativo. Organismo que posee los mecanismos necesarios para destoxificar los metabolitos del oxígeno. Puede generar energía utilizando el oxígeno como aceptor de electrones.
Anaerobio tolerante al aire. Organismo que depende de la fermentación para sus necesidades energéticas y que posee enzimas destoxificantes y moléculas antioxidantes que protegen de los metabolitos tóxicos.
Análisis inmunosorbente con la enzima ligada. Técnica que emplea anticuerpos y que se utiliza para detectar y medir hormonas y otras moléculas.
Análogo. Sustancia de estructura semejante a una molécula natural.
Análogo de base. Molécula que se asemeja a los nucleótidos normales del DNA y que puede sustituirlos durante la replicación del DNA, conduciendo a mutaciones.
Anemia perniciosa. Enfermedad producida por la deficiencia de vitamina B_{12}. Los síntomas son una disminución de los eritrocitos, debilidad y trastornos neurológicos.
Anhídrido. Producto de una reacción de condensación entre dos grupos carboxilo o dos grupos fosfato en la que se elimina una molécula de agua.
Anhídrido mixto. Anhídrido de ácido con dos grupos R diferentes.
Animal transgénico. Animal que se produce cuando secuencias de DNA recombinante se microinyectan en un huevo fertilizado.
Anómero. Isómero de un azúcar cíclico que se diferencia de otro en la disposición de los grupos alrededor de un carbono asimétrico.
Anotación. Identificación funcional de los genes en un genoma.
Anticodón. Secuencia de tres ribonucleótidos en una molécula de tRNA que es complementaria de un codón en la molécula de mRNA; la unión codón-anticodón da lugar a la entrega del aminoácido correcto al lugar de la síntesis de proteínas.
Antígeno. Cualquier sustancia capaz de estimular el sistema inmunitario; generalmente, una proteína o un hidrato de carbono grande.
Antioxidante. Sustancia que impide la oxidación de otras moléculas.
Aparato de Golgi (Complejo de Golgi). Conjunto de sacos membranosos curvados que participan en el empaquetamiento y distribución de los productos celulares hacia los compartimientos externo e interno.
Apareamiento de bases de Hoogsteen. Apareamiento de bases no convencional que estabiliza el DNA-H.

Apoenzima. Porción proteica de una enzima que requiere un cofactor para actuar en la catálisis.
Apoproteína. Proteína sin su grupo prostético.
Apoptosis. Muerte celular programada.
Arquea. Uno de los tres dominios de los organismos vivos. Organismos procariotas que tienen la apariencia de las bacterias y muchas propiedades moleculares que son semejantes a las de los eucariotas.
Aterosclerosis. Acumulación del colesterol en exceso del plasma y de otros lípidos y proteínas sobre las paredes de las arterias, disminuyendo el diámetro arterial.
Autocrino. Se refiere a moléculas semejantes a las hormonas que son activas dentro del tejido u órgano en el que se producen.
Autótrofo. Organismo que transforma la energía luminosa (procedente del sol) o varias sustancias químicas en energía química de enlace.
Azúcar. Unidad básica de los hidratos de carbono. Clase de biomoléculas que contienen grupos hidroxilo y un grupo aldehído o un grupo cetona.
Azúcar reductor. Azúcar que puede oxidarse por agentes oxidantes débiles.

Bacteria. Uno de los tres dominios de la vida. Procariotas unicelulares con diversas capacidades para explotar sus entornos.
Base. Molécula que puede aceptar iones hidrógeno.
Base conjugada. El anión (o molécula) que se produce cuando un ácido pierde un protón.
Base débil. Base orgánica que tiene una capacidad pequeña, aunque mensurable, para combinarse con los iones hidrógeno.
Biblioteca de cDNA. Biblioteca de moléculas de clones de cDNA (DNA complementario) producidas a partir de moléculas de mRNA mediante transcripción inversa.
Bicapa lipídica. Capa lipídica biomolecular que constituye el marco estructural de las membranas celulares.
Biciclo de Krebs. Ruta bioquímica en la que el aspartato que se requiere en el ciclo de la urea se genera a partir del oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico.
Bioacumulación. Proceso que concentra las sustancias químicas según se procesan a través de la cadena alimentaria.
Bioenergética. Estudio de las transformaciones energéticas en los organismos vivos.
Biología molecular. Ciencia dedicada a la elucidación de la estructura y la función de los genomas.
Biomolécula. Moléculas que constituyen los organismos vivos.
Biorreparación. Utilización de los procesos biológicos para descontaminar los lugares de residuos tóxicos.
Biotransformación. Conjunto de procesos catalizados por enzimas en los que moléculas tóxicas y normalmente hidrófobas se convierten en metabolitos menos tóxicos y más solubles.

Cadena codificante. Cadena de DNA que tiene la misma secuencia de bases que el RNA transcrito (con timina en lugar de uracilo).
Cadena con sentido. Cadena de DNA que copia la RNA polimerasa para producir mRNA, rRNA o tRNA.
Caloría. Unidad de energía igual a la cantidad de calor necesario para aumentar la temperatura de 1 g de agua, 1 grado C; equivalente a 4.184 J.
Cambios espontáneos. Procesos físicos o químicos que tienen lugar con liberación de energía.
Carcinogenia. Proceso por el que las células se hacen genéticamente inestables y finalmente cancerosas.
β-Caroteno. Molécula pigmentaria vegetal que actúa como absorbente de la energía luminosa y como antioxidante.
Carotenoide. Molécula isoprenoide que actúa como un pigmento recolector de luz o que protege contra las ERO.
Catabolismo. Degradación de las moléculas combustibles y producción de energía para las funciones celulares.
Catecolaminas. Perteneciente a una clase de neurotransmisores derivados de la tirosina; contiene la dopamina, la adrenalina y la noradrenalina.
Cebador. Segmento corto de RNA que se requiere para iniciar la síntesis de DNA.
Celobiosa. Producto de degradación de la celulosa. Disacárido que contiene dos moléculas de glucosa ligadas por un enlace glucosídico $\beta(1,4)$.
Célula B o linfocito B. Un leucocito que produce y segrega anticuerpos que se unen a sustancias ajenas iniciando de esta forma su destrucción en la respuesta inmunitaria humoral.
Célula diana. Célula que responde a la unión de una hormona o un factor de proliferación.
Célula eucariota. Célula viva que posee un núcleo verdadero.
Célula procariota. Célula viva que carece de núcleo.
Célula T o linfocito T Leucocito que lleva en su superficie moléculas semejantes a los anticuerpos. Se une a células ajenas y las destruye en la inmunidad celular.
Celulosa. Polímero producido por las plantas que está formado por residuos de D-glucopiranosa ligados por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$.
Centrifugación diferencial. Técnica de fraccionamiento celular en la que las células homogeneizadas se separan mediante fuerzas centrífugas.
Centrifugación en gradiente de densidad. Técnica en la que las fracciones celulares se purifican aún más por centrifugación en un gradiente de densidad.
Centro de reacción. Complejo proteico unido a la membrana en una célula fotosintetizadora que participa en la conversión de la energía luminosa en energía química.
Cera. Mezcla compleja de lípidos apolares incluidos los ésteres de ceras.
Cetal. Familia de compuestos orgánicos con la fórmula general $RR'C(OR')_2$. Formado a partir de la reacción de un hemiacetal con un alcohol.
Cetoacidosis. Acidosis producida por la acumulación excesiva de cuerpos cetónicos.
Cetogénesis. Las moléculas en exceso de acetil-CoA se convierten en acetoacetato, β-hidroxibutirato y acetona, a los que se conoce como cuerpos cetónicos.
Cetosis. Acumulación de cuerpos cetónicos en la sangre y los tejidos.
Chaperona molecular. Molécula que colabora en el plegamiento proteico. La mayoría son proteínas de choque térmico.
Chaperonina. Perteneciente a una familia de chaperonas moleculares; también se denomina hsp60.
Ciclina. Perteneciente a un grupo de proteínas que regulan el ciclo celular.
Ciclo del ácido cítrico. Ruta bioquímica que degrada el grupo acetilo de la acetil-CoA a CO_2 y H_2O, al tiempo que se reducen tres moléculas de NAD^+ y una molécula de FAD.
Ciclo de Calvin. Ruta metabólica principal mediante la cual el CO_2 se incorpora a las moléculas orgánicas.
Ciclo de Cori. Proceso metabólico en el que el lactato, producido en los tejidos como el músculo, se transfiere al hígado, donde se convierte en sustrato de la gluconeogénesis.
Ciclo del glioxilato. Modificación del ciclo del ácido cítrico que tiene lugar en los vegetales, las bacterias y otros eucariotas. Permite el crecimiento en estos organismos a partir de sustratos de dos carbonos como el etanol, el acetato y la acetil CoA.
Ciclo inútil. Conjunto de reacciones opuestas que pueden disponerse en un ciclo, pero normalmente no ocurren simultáneamente. El funcionamiento de estas reacciones en ambas direcciones está permitido por mecanismos de control metabólico para evitar el desperdicio de energía.
Ciclo de la urea de Krebs. Ruta cíclica que convierte las moléculas de amonio de desecho junto con el CO_2 y el aspartato en urea. Nombrado por su descubridor Hans Kbres.
Ciclo lítico. Ciclo vital de un virus en el que destruye su célula hospedadora.
Ciclo de la urea. Ruta cíclica en la que las moléculas de amonio de desecho, el CO_2, y las moléculas de aspartato se convierten en urea.

Cinética. Estudio de las velocidades de reacción.
Cinética enzimática. Estudio de las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas.
Cistrón. Secuencia de DNA que contiene la información que codifica un polipéptido y las señales requeridas para la función ribosómica.
Citoesqueleto. Conjunto de filamentos proteicos (microtúbulos, macrofilamentos y fibras intermedias) que mantienen la estructura celular interna y permiten moverse a los orgánulos.
Citoquina. Grupo de polipéptidos y proteínas análogas a las hormonas. Se denominan también factores de proliferación.
Clonación. Procedimiento de laboratorio que produce copias múltiples de un gen.
Clonación por escopetazo. Técnica de clonación en la que se crean bibliotecas genómicas por la digestión al azar de un genoma.
Clorofila. Molécula de pigmento verde que se asemeja al hemo. Tipo de molécula que absorbe energía luminosa.
Cloroplasto. Plástido que contiene clorofila.
Código genético. Conjunto de tripletes de bases de nucleótidos (codones) que codifican a los aminoácidos en las proteínas, así como las señales de inicio y de parada.
Codón. Secuencia de tres nucleótidos del mRNA que dirige la incorporación de un aminoácido durante la síntesis de proteínas o actúa como señal de comienzo o de parada.
Coenzima. Molécula orgánica pequeña que se requiere en los mecanismos catalíticos de algunas enzimas.
Coenzima A. Molécula transportadora de acilo que consta de un derivado 3′-fosfato del ADP ligado al ácido pantoténico a través de un enlace éster fosfato. El ácido pantoténico está ligado a la β-mercaptoetilamina por un enlace amida.
Cofactor. Componente no proteico de una enzima (bien un ion inorgánico o una coenzima) que se requiere para la catálisis.
Condensación aldólica. Adición aldólica con la eliminación de una molécula de agua.
Conjugación. Apareamiento sexual no convencional entre células bacterianas. La célula donadora transfiere un segmento de DNA en una célula receptora a través de un pelo especializado.
Conjunto de aminoácidos. Moléculas de aminoácidos de disposición inmediata en un organismo para su utilización en los procesos metabólicos.
Contig. Perteneciente a un conjunto de secuencias solapantes de DNA que se utilizan para identificar la secuencia de bases de una región del DNA.
Control respiratorio. Control de la respiración aerobia por la concentración de ATP.
Cooperatividad negativa. Mecanismo en el que la unión de un ligando a una molécula diana disminuye la probabilidad de la unión de otro ligando.
Cooperatividad positiva. Mecanismo en el que la unión de un ligando a una molécula diana aumenta la probabilidad de la unión de otra.
Corte y empalme. Escisión de los intrones durante el procesamiento del mRNA.
Corte y empalme proteico. Mecanismo posterior a la traducción en el que se corta con precisión una secuencia peptídica interpuesta de un polipéptido naciente.
Cromatina. Componente del núcleo de los eucariotas que contiene DNA. El DNA está casi siempre formando complejos con histonas.
Cromatografía de afinidad. Técnica en la que se aíslan las proteínas de acuerdo con sus propiedades biológicas, es decir, su capacidad para unirse a una molécula especial (el ligando).
Cromatografía de filtración en gel. Técnica que se utiliza para separar moléculas de acuerdo con su tamaño y forma, que emplea una columna rellena con un polímero gelatinoso.
Cromatografía de intercambio iónico. Técnica que separa las moléculas de acuerdo con su carga.
Cromóforo. Componente molecular que absorbe luz de una frecuencia específica.
Cromoplasto. Tipo de plástido de las plantas que acumula los pigmentos responsables de los colores de las hojas, los pétalos de las flores y las frutas.
Cromosoma. Estructura física, compuesta por DNA y algunas proteínas, que contiene los genes de un organismo.
Cromosoma artificial bacteriano. Derivado de un plásmido grande de *E. coli* que se utiliza para clonar secuencias de DNA de hasta 300 kb.
Cromosoma artificial de levaduras. Vector de clonación que puede acomodar hasta 100 kb. Contiene secuencias eucariotas que actúan como centrómeros, telómeros y un origen de replicación.
Cruciforme. Estructura semejante a una cruz en las moléculas de DNA que probablemente se forma cuando una secuencia de DNA contiene un palíndromo.
Cubierta nuclear. Membrana doble que separa al núcleo del citoplasma.
Cuerpo cetónico. Acetona, acetoacetato o β-hidroxibutirato. Se producen en el hígado a partir de acetil-CoA.

Depósito amiloide. Agregado insoluble de restos proteináceos intracelulares que se produce en los cerebros de los pacientes con Alzheimer.
Desacoplador. Molécula que desacopla la síntesis de ATP del transporte electrónico. Colapsa un gradiente de protones al transportar los protones a través de la membrana.
Descarboxilación. Reacción en la que un ácido carboxílico pierde CO_2.
Desensibilización. Proceso en el que las células se ajustan a los cambios de estimulación disminuyendo el número de receptores de superficie de la célula o inactivando esos receptores.
Desnaturalización. Rotura de la estructura de una proteína o de un ácido nucleico producida por la exposición al calor o a las sustancias químicas y que conduce a la pérdida de la estructura biológica.
Desplazamiento del marco de la traducción. Cambio +1 ó −1 en el marco de lectura que permite la síntesis de más de un polipéptido a partir de un único mRNA.
Diabetes insípida nefrogénica. Enfermedad autosómica recesiva en la que los riñones de las personas afectadas no pueden producir una orina concentrada.
Diálisis. Técnica de laboratorio en la que se utiliza una membrana semipermeable para separar las moléculas pequeñas de los solutos más grandes.
Diastereómero. Esteroisómero que no es un enantiómero (isómero especular).
Dicroismo circular. Tipo de espectroscopia en la que la relación entre el movimiento molecular y la estructura se analiza con una radiación electromagnética.
Dictiosoma. Término que frecuentemente se utiliza para el complejo de Golgi en las plantas.
Difusión facilitada. Difusión a través de una membrana con la ayuda de un transportador.
Difusión simple. Proceso en el que cada tipo de soluto, impulsado por un movimiento molecular aleatorio, se mueve a favor de un gradiente de concentración.
Dipolo. Diferencia de carga entre átomos de una molécula que se produce como consecuencia de la orientación asimétrica de los enlaces polares.
Direccionamiento. Proceso que dirige las proteínas recién sintetizadas hacia sus destinos correctos.
Disacárido. Glucósido compuesto por dos residuos de monosacárido.
Diuresis osmótica. Proceso en el cual el soluto del filtrado urinario produce una pérdida excesiva de agua y electrólitos.
DNA A. DNA en el que el apareamiento de bases no se encuentra en ángulos rectos con el eje helicoidal. Se produce cuando el DNA se encuentra parcialmente deshidratado.
DNA H. Secuencia de DNA que consta de un segmento de polipurina unido por un enlace de hidrógeno a una cadena de polipirimidina que forma una triple hélice. Implica la formación de apareamientos de bases no convencionales.
DNA satélite. Secuencias de DNA dispuestas cerca una de otra. Forman una banda satélite cuando el DNA se digiere y se centrifuga.

DNA Z. Forma de DNA que está girada en una espiral a izquierdas. Se denomina así por su conformación de zig-zag, que la hace más delgada que el DNA B.

Ecuación de Henderson-Hasselbach. Expresión cinética de la velocidad que define la relación entre el pH, el pK_a y las concentraciones de los componentes ácido y base de una disolución amortiguadora.
Edición del RNA. Alteración de la secuencia de bases en una molécula de mRNA recién sintetizada. Las bases pueden modificarse de forma química, eliminarse o añadirse.
Efecto Donnan. Distribución desigual de los iones a través de una membrana que da lugar al establecimiento de un gradiente eléctrico. Conocido también como potencial de membrana.
Efecto hipocrómico. Descenso de la absorción de luz UV (260 nm) que tiene lugar cuando las bases púricas o pirimidínicas se incorporan en pares de bases en las secuencias polinucleotídicas.
Efecto Pasteur. Observación de que el consumo de glucosa es mayor en condiciones anaerobias que cuando está presente el O_2.
Efecto de potenciación de Emerson. Incremento de la fotosíntesis (medida por la evolución del O_2 por cuanto de luz) que tiene lugar cuando se utilizan las longitudes de onda azules además de las longitudes de onda rojas.
Efector. Molécula cuya unión a una proteína altera la actividad de la proteína.
Eicosanoide. Molécula semejante a una hormona que contiene 20 carbonos. La mayoría derivan del ácido araquidónico. Entre los ejemplos se encuentran las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos.
Electrófilo. Especie con deficiencia de electrones, como un ion hidrógeno (H^+).
Electroforesis. Tipo de técnicas en las que las moléculas se separan unas de otras debido a las diferencias de su carga neta.
Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS. Método para separar proteínas o determinar sus pesos moleculares que utiliza el detergente con carga negativa dodecilsulfato sódico.
Electroporación. Método para introducir un vector de clonación en una célula hospedadora que implica el tratamiento con una corriente eléctrica.
Elemento de respuesta a las hormonas. Secuencia específica de DNA que une complejos hormona-receptor. La unión de un complejo hormona-receptor potencia o disminuye la transcripción de un gen específico.
Elementos del DNA transponibles. Secuencias de DNA que se cortan a sí mismas y luego se insertan en otro lugar.
Elongación. Fase de crecimiento de la cadena polipeptídica durante la traducción en los ribosomas.
Enantiómero. Estereoisómero que es una imagen especular de otro.
Endocitosis. Proceso en el que una célula capta solutos o partículas encerrándolas en vesículas extraídas de su membrana plasmática.
Enediol. Intermediario formado durante las reacciones de isomerización de los monosacáridos.
Energía. Capacidad para realizar trabajo.
Energía de activación. Umbral energético que se requiere para producir una reacción química.
Energía libre. Energía de un sistema disponible para realizar trabajo útil.
Enfermedad de Alzheimer. Enfermedad progresiva y fatal que se caracteriza por un deterioro grave de las funciones intelectuales producido por la muerte de las neuronas.
Enfermedad autoinmunitaria. Trastorno en que una respuesta inmunitaria se dirige contra los propios tejidos de un animal.
Enfermedad conformacional. Enfermedad producida por un mal plegamiento y la agregación proteica.
Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. Enfermedad neurodegenerativa rara que se caracteriza por demencia y deterioro de la coordinación de los movimientos. Se clasifica como una enfermedad priónica.
Enfermedad molecular. Enfermedad producida por un gen mutado.
Enlace de hidrógeno. Fuerza de atracción entre un átomo de hidrógeno y un átomo pequeño muy electronegativo (p. ej., O o N) sobre otra molécula (o la misma molécula).
Enlace glucosídico. Enlace acetal formado entre dos monosacáridos.
Enlace peptídico. Enlace amida en un polímero de aminoácidos.
Entalpía. Contenido de calor de un sistema. En un sistema biológico es esencialmente equivalente a la energía total del sistema.
Entropía. Medida de la aleatoriedad o desorden de un sistema. Medida de esa parte de la energía total de un sistema que no está disponible para un trabajo útil.
Enzima. Biomolécula que cataliza una reacción química.
Enzima alostérica. Enzima cuya actividad está afectada por la unión de las moléculas efectoras.
Enzima marcadora. Enzima que es un indicador fiable de la presencia de un orgánulo específico.
Enzima reguladora. Enzima que cataliza un paso comprometido en una ruta bioquímica.
Epimerización. Interconversión reversible de epímeros.
Epímero. Molécula que se diferencia de la configuración de otra por un carbono asimétrico.
Epóxido. Éter en el que el oxígeno se incorpora a un anillo de tres miembros.
ER liso. Tipo de retículo endoplásmico que participa en la síntesis y biotransformación de lípidos.
Escala de pH. Una medida de la concentración de iones hidrógeno. El pH es el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno en moles por litro.
Esfera de solvatación. Caparazón de moléculas de agua que se dispone alrededor de iones positivos y negativos.
Esfingomielina. Tipo de fosfolípido que contiene esfingosina. El grupo 1-hidroxilo de la ceramida (un derivado del ácido graso de la esfingosina) se esterifica con el grupo fosfato de fosforilcolina o fosforiletanolamina.
Espacio tilacoide. Compartimiento interno creado por la formación de grana dentro de los cloroplastos. Se denomina también lumen tilacoide.
Especies reactivas de oxígeno. Derivado reactivo del oxígeno molecular, entre los que se encuentran el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y el oxígeno singlete.
Espectro de absorción. Gráfico de la absorción de radiación electromagnética de una muestra.
Espectro de acción. Mide el efecto de la longitud de onda de la luz sobre la velocidad de fotosíntesis.
Espectroscopía de masas. Técnica en la que las moléculas se vaporizan y luego se bombardean mediante un haz de electrones de energía elevada, haciendo que se fragmenten como cationes.
Espectroscopía de resonancia de espín electrónico. Técnica que mide las diferencias de los niveles energéticos de los electrones desapareados que tienen lugar en un campo magnético que cambia rápidamente.
Espliceosoma. Complejo multicomponente que contiene proteína y RNA que participa en la fase de corte y empalme del procesamiento del mRNA.
Esquema Z. Mecanismo por el que fluyen los electrones entre el PSII y el PSI durante la fotosíntesis.
Estado estacionario. Fase en la vida de un organismo en la que la velocidad de los procesos anabólicos es aproximadamente igual a la de los procesos catabólicos.
Estado de transición. Intermediario inestable de la catálisis en el que la enzima ha alterado la forma del sustrato de forma que ahora comparte propiedades del sustrato y del producto.
Estereoisómero. Molécula que tiene la misma fórmula estructural y patrones de enlace que otra, pero tiene una disposición diferente de los átomos en el espacio.
Esteroide. Derivado de los triterpenos. Contienen cuatro anillos fusionados.
Estroma. Sustancia densa llena de enzimas que rodea la membrana tilacoide dentro del cloroplasto.
Estructura cuaternaria. Asociación de dos o varios polipéptidos plegados para formar una proteína funcional.

Estructura primaria. Secuencia de aminoácidos de un polipéptido.
Estructura secundaria. Plegado de una cadena polipeptídica en patrones locales como hélices α y hojas plegadas β. La estructura secundaria se mantiene mediante enlaces de hidrógeno entre el hidrógeno amida y el oxígeno carbonilo del enlace peptídico.
Estructura supersecundaria. Conjunto de combinaciones específicas de estructuras de hélice α y hoja plegada β en las moléculas proteicas.
Estructura terciaria. Estructura tridimensional globular de un polipéptido que se produce por el plegamiento de las regiones de estructura secundaria. El plegamiento se produce por las interacciones de las cadenas laterales o grupos R de los residuos de aminoácido.
Eucariota. Uno de los tres dominios de la vida. Contiene los organismos eucariotas unicelulares y multicelulares.
Eucromatina. Forma menos condensada de la cromatina que tiene niveles variables de actividad de transcripción.
Exocitosis. Proceso en el que se fusiona una vesícula intracelular con la membrana plasmática, liberando de esta forma los contenidos de la vesícula al espacio extracelular.
Exón. Región en un gen partido o interrumpido que codifica RNA y que acaba en el producto final (p. ej., mRNA).
Exonucleasa. Enzima que elimina nucleótidos desde el extremo de la cadena polinucleotídica.
Explosión respiratoria. Proceso que consume oxígeno en las células recolectoras como los macrófagos, en las que se generan las ERO, y se utiliza para destruir las células ajenas o dañadas.
Expresión génica. Mecanismo por el cual los seres vivos regulan el flujo de información genética.
Exteína. Segmentos peptídicos que se cortan y empalman juntos para formar una proteína madura durante el corte y empalme de las proteínas.
Extremoenzima. Enzima que opera en condiciones extremas de temperatura, presión, pH o concentración iónica.
Extremófilo. Organismo que vive en condiciones extremas de temperatura, pH, presión o concentración iónica que fácilmente podrían destruir a la mayoría de los organismos.

Factor de crecimiento semejante a la insulina. Proteína del ser humano que interviene en las acciones promotoras de crecimiento de la hormona de crecimiento. Posee propiedades semejantes a la insulina (p. ej., promueve el transporte de glucosa y la síntesis de grasas).
Factor de liberación. Proteína que participa en la fase de terminación de la traducción.
Factor de necrosis tumoral. Proteína que suprime la división celular y las células tóxicas o tumorales.
Factor de proliferación. Polipéptido extracelular que estimula la proliferación y/o la división celular.
Factor de proliferación derivado de las plaquetas. Proteína segregada por las plaquetas sanguíneas durante la coagulación. Estimula la mitosis durante la cicatrización de las heridas.
Factor de proliferación epidérmico. Proteína que estimula la división celular de las células epiteliales.
Factor de transcripción. Proteínas que regulan o inician la síntesis de RNA mediante su unión a secuencias de DNA específicas denominadas elementos de respuesta.
Fase estacionaria. Matriz cromatográfica sólida.
Fase móvil. La fase que se mueve en los métodos cromatográficos.
Fermentación. Metabolismo o degradación anaerobia de los azúcares. Proceso que rinde energía en el que las moléculas orgánicas sirven como donadoras y aceptoras de electrones.
Fibra intermedia. Componente del citoesqueleto que contiene un conjunto heterogéneo de proteínas.
Fibrosis quística. Enfermedad autosómica recesiva en última instancia mortal producida por la pérdida o la deficiencia de una proteína canal para el cloro.
Fijación del nitrógeno. Conversión del nitrógeno molecular (N_2) en una forma reducida de utilidad biológica (NH_3) por microorganismos fijadores de nitrógeno.
Flavoproteína. Proteína conjugada en la que el grupo prostético es FMN o FAD.
Fluorescencia. Forma de luminiscencia en la que determinadas moléculas pueden absorber luz de una longitud de onda y emitir luz de otra longitud de onda.
3'-Fosfoadenosina-5'-fosfosulfato. Molécula donadora de sulfato de energía elevada que se utiliza en la biosíntesis de los sulfátidos, un tipo de glucolípidos.
Fosfoglicérido. Tipo de molécula lipídica que se encuentra predominantemente en las membranas formada por glicerol ligado a dos ácidos grasos, fosfato y un grupo polar.
Fosfolípido. Molécula anfipática que posee un dominio hidrófobo (cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos) y un dominio hidrófilo (un grupo polar de cabeza). Componente estructural importante de las membranas.
Fosfoproteína. Proteína conjugada en la que el grupo prostético es el fosfato.
Fosforilación a nivel de sustrato. Síntesis de ATP a partir de ADP por fosforilación acoplada con la fragmentación exergónica de una molécula sustrato orgánica de energía elevada.
Fosforilación oxidativa. Síntesis de ATP acoplada al transporte electrónico.
Fotoautótrofo. Organismo que posee un mecanismo para transformar la energía solar en otras formas de energía.
Fotofosforilación. Síntesis de ATP acoplada al transporte electrónico impulsado por la energía luminosa.
Fotoheterótrofo. Organismo que utiliza tanto la luz como las biomoléculas orgánicas como fuentes de energía.
Fotoquímica. Estudio de las reacciones químicas que se inician por la absorción de luz.
Fotorrespiración. Proceso dependiente de la luz que tiene lugar en las células vegetales con una fotosíntesis activa y que consume oxígeno y libera dióxido de carbono.
Fotosíntesis. Atrapamiento de energía luminosa y su conversión en energía química, que a continuación reduce el dióxido de carbono y lo incorpora en molécula orgánicas.
Fotosistema. Mecanismo fotosintetizador formado por pigmentos que absorben luz.
Fraccionamiento celular. Técnica que implica homogeneización y centrifugación, y que permite el estudio de los orgánulos celulares.
Fragmentación tiolítica. Fragmentación de un enlace carbono-azufre.
Fragmento de Okazaki. Serie de segmentos de desoxirribonucleótido que se forman durante la replicación discontinua de una de las cadenas del DNA, mientras que la otra cadena se replica de forma continua.
Fuerza de dispersión de London. Interacción dipolo-dipolo temporal.
Fuerza protonmotriz. Fuerza que surge de un gradiente de protones y un potencial de membrana.
Fuerzas de van der Waals. Clase de interacciones electrostáticas transitorias, relativamente débiles entre dipolos permanentes y/o inducidos.

Gen. Secuencia de DNA que codifica un polipéptido, rRNA o tRNA.
Gen constitutivo. Gen que se transmite de forma habitual y que codifica productos génicos que se requieren para la función celular.
Gen estructural. Gen que codifica la síntesis de un polipéptido o un polinucleótido con una función no reguladora (p. ej., mRNA, rRNA o tRNA).
Gen inducible. Gen que sólo se expresa en determinadas condiciones.
Genética. Investigación científica de la herencia.
Genoma. Información genética total que posee un organismo.
Genómica. Análisis a gran escala de los genomas completos.
Genómica funcional. Disciplina científica dedicada a elucidar la forma en la que las biomoléculas trabajan juntas dentro de los organismos funcionantes.
Glioxisoma. Tipo de peroxisoma que se encuentra en las semillas que germinan, en el

que las moléculas lipídicas se transforman en hidratos de carbono.

Glóbulo fundido. Lugar parcialmente globular de un polipéptido plegado que se asemeja al estado nativo de la molécula.

Glucocáliz. Estructura que contiene hidratos de carbono sobre la superficie externa de las células.

Glucoconjugado. Molécula que posee componentes hidratos de carbono unidos covalentemente (p. ej., glucoproteínas y glucolípidos).

Glucocorticoide. Hormona esteroidea producida en la corteza suprarrenal que afecta al metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos.

Glucogénesis. Ruta bioquímica que añade glucosa a los polímeros crecientes de glucógeno cuando la concentración de glucosa en sangre es elevada.

Glucógeno. Molécula de almacenamiento de glucosa de los vertebrados. Polímero ramificado que contiene enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$.

Glucogenólisis. Ruta bioquímica que elimina las moléculas de glucosa de los polímeros de glucógeno cuando la concentración de glucosa en sangre es baja.

Glucolípido. Un glucoesfingolípido. Molécula en la que un monosacárido, disacárido u oligosacárido está unido a una ceramida a través de un enlace *O*-glucosídico.

Glucólisis. Ruta enzimática que convierte la molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato. Este proceso anaerobio genera energía en forma de dos moléculas de ATP y dos moléculas de NADH.

Glucólisis aerobia. Metabolismo energético desregulado de las células tumorales. Implica una tasa elevada de glucólisis y algún grado de fosforilación oxidativa.

Gluconeogénesis. Síntesis de glucosa a partir de moléculas distintas de los hidratos de carbono.

Glucoproteína. Proteína conjugada en la que las moléculas de hidratos de carbono son el grupo prostético.

Glucosaminoglucano. Cadena de heteropolisacárido larga y no ramificada compuesta de disacáridos como unidades repetitivas.

Glucósido. Acetal de un azúcar.

Glucosuria. Presencia de glucosa en la orina. Un síntoma de diabetes mellitus.

Granum. Porción plegada de la membrana tilacoide.

Grasa neutra. Moléculas de triacilglicerol.

Grupo acilo. Grupo funcional que se encuentra en los derivados de los ácidos carboxílicos.

Grupo alquilo. Grupo hidrocarburo simple que se forma cuando se elimina un hidrógeno del hidrocarburo original (p. ej., metilo, CH_3-).

Grupo funcional. Grupo de átomos que experimenta reacciones características cuando está unido a un átomo de carbono en una molécula o biomolécula orgánicas.

Grupo polar de cabeza. Grupo molecular que contiene fosfato u otros grupos cargados o polares.

Grupo prostético. Porción no proteica de una proteína conjugada que es esencial para la actividad biológica de la proteína. Frecuentemente una molécula orgánica compleja.

Grupo saliente. Grupo desplazado durante una reacción de sustitución nucleófila.

Helicasa. Enzimas que requieren ATP que catalizan el desenrollamiento del DNA dúplex.

Hemiacetal. Perteneciente a una familia de moléculas orgánicas con la fórmula general RR′C(OR′)(OH) que se forma por la reacción de una molécula de alcohol con un aldehído.

Hemicetal. Perteneciente a una familia de moléculas orgánicas con la fórmula general RR′C(OR′)(OH) que se forma por la reacción de una molécula de alcohol con una cetona.

Hemoproteína. Proteína conjugada en la que el grupo prostético es el hemo, un grupo orgánico que contiene hierro.

Heterocariota. Estructura formada por la fusión de las membranas de dos células diferentes. Se utiliza para demostrar la fluidez de la membrana.

Heterocromatina. Cromatina que está tan concentrada que es inactiva para la transcripción.

Heterótrofo. Organismo que obtiene energía degradando moléculas del alimento preformadas obtenidas al consumir otros organismos.

Híbrido de resonancia. Molécula con dos o más estructuras alternativas que sólo se diferencian en la posición de los electrones.

Hidratación. Tipo de reacción de adición en la que se añade agua a un doble enlace carbono-carbono.

Hidrocarburo. Molécula que sólo contiene carbono e hidrógeno.

Hidrocarburo alifático. Hidrocarburo no aromático como el metano o el ciclohexano.

Hidrocarburo aromático. Molécula que contiene un anillo bencénico o que tiene propiedades semejantes a las del benceno.

Hidrófilo. Moléculas que poseen cargas positivas o negativas, o que contienen un número relativamente grande de átomos de oxígeno o nitrógeno electronegativos. Se disuelven fácilmente en el agua.

Hidrófobo. Moléculas que poseen pocos o ningún átomos electronegativos. No se disuelven en agua.

Hidrolasa. Enzima que cataliza reacciones en las que la adición de agua rompe enlaces.

Hidrólisis. Reacción química que implica la reacción de una molécula con el agua. Proceso por el que las moléculas se rompen en sus constituyentes por la adición de agua.

Hidroxiapatita. Gel de fosfato cálcico que se utiliza en la investigación de los ácidos nucleicos. Se une al DNA de doble cadena con más tenacidad que al DNA de cadena simple.

Hiperamoniemia. Elevación potencialmente mortal de la concentración de iones amonio en la sangre.

Hiperglucemia. Concentración de glucosa en sangre superior a lo normal.

Hiperosmolar. Que posee una presión osmótica mayor que la del plasma sanguíneo normal.

Hiperuricemia. Concentración anormalmente elevada de ácido úrico en sangre.

Hipoglucemia. Concentración de glucosa en sangre inferior a lo normal.

Hipótesis de bamboleo. Hipótesis que explica por qué las células frecuentemente tienen menos tRNA de los esperados. La libertad en el apareamiento de la tercera base del codón con la primera base del anticodón permite que algunos tRNA se apareen con varios codones.

Hipótesis de la señal. Mecanismo que explica la síntesis de las proteínas secretoras en los ribosomas unidos al RER. Una secuencia de residuos de aminoácidos sobre la cadena polipeptídica naciente participa en la inserción de la molécula en la membrana del RER.

Holoenzima. Enzima completa formada por la apoenzima más un cofactor.

Holoproteína. Apoproteína combinada con su grupo prostético.

Homeostasis. Capacidad de los organismos vivos para regular los procesos metabólicos a pesar de la variabilidad de sus ambientes interno y externo.

Hormona. Molécula producida por células específicas que influye sobre la función de células diana distantes.

Hormona endocrina. Hormona segregada al torrente sanguíneo que actúa sobre células distantes.

Horquilla de replicación. Región en forma de Y de una molécula de DNA que está experimentando la replicación. Se produce por la separación de dos cadenas de DNA.

Hsp 60. Perteneciente a una familia de chaperonas moleculares que intervienen en el plegamiento proteico formando una gran estructura compuesta por dos anillos de siete miembros apilados que facilitan el plegamiento de los polipéptidos dependiente del ATP; también se denominan chaperoninas o Cpn 60s.

Hsp 70. Perteneciente a una familia de chaperonas moleculares que se unen y estabilizan a las proteínas durante las primeras fases del proceso de plegamiento.

Huellas de DNA. Técnica de laboratorio que se utiliza para comparar los patrones de bandas de DNA de distintas personas.

Inducción enzimática. Proceso en el que una molécula estimula la síntesis de una enzima específica.
Inhibidor. Molécula que reduce la actividad de una enzima.
Iniciación. Fase de comienzo de la traducción
Inmunidad celular. Procesos del sistema inmunitario con actuación de las células T, un tipo de linfocito.
Inteína. Segmento peptídico escindido que se genera durante el corte y empalme de las proteínas.
Interacción alostérica. Mecanismo regulador en el que una molécula pequeña, denominada efectora o moduladora, se une de forma no covalente a una proteína y altera su actividad.
Interacción electrostática. Atracción no covalente entre átomos o grupos de carga opuesta.
Interacción hidrófoba. Asociación de moléculas apolares cuando se colocan en el agua.
Intercambio disulfuro. Proceso posterior a la traducción catalizado por enzimas en el que se forman los enlaces disulfuro correctos, dando lugar a una proteína biológicamente activa.
Interferón. Perteneciente a un grupo de glucoproteínas que poseen una actividad antivírica inespecífica (p. ej., estimulación de las células para que produzcan proteínas antivíricas) que inhiben la síntesis del RNA y las proteínas víricas, y regulan la proliferación y diferenciación de las células del sistema inmunitario.
Intoxicación por amonio. Concentración elevada de amonio en el organismo que produce letargia, temblores, hablar poco claro, vómitos inducidos por proteínas y la muerte.
Intrón. Secuencia interpuesta no codificante en una escisión o gen interrumpido que no se encuentra en el RNA producto final.
Ion doble. Moléculas neutras que llevan un número igual de cargas positivas y negativas simultáneamente.
Ionóforo. Sustancia que transporta cationes a través de las membranas.
Isoenzima. Una de las dos o más formas de la misma actividad enzimática con secuencias de aminoácidos diferentes.
Isomerasa. Enzima que cataliza la conversión de un isómero en otro.
Isomerización. Interconversión reversible de isómeros.
Isómero *cis*. Isómero en el que dos sustituyentes están en el mismo lado de un doble enlace.
Isómero óptico. Estereoisómero que posee uno o varios centros quirales.
Isómero *trans*. Isómero en el que se encuentran dos sustituyentes en lados opuestos de un doble enlace.
Isoprenoide. Perteneciente a una clase de biomoléculas que contienen unidades estructurales repetitivas de cinco carbonos conocidas como unidades isopreno. Entre los ejemplos están los terpenos y los esteroides.
Isotérmico. Que tiene una temperatura uniforme.

Katal. Medida de la velocidad de la actividad enzimática. 1 katal (kat) es igual a la conversión de un mol de sustrato en producto por segundo.

Lactona. Éster cíclico.
Lactosa. Disacárido que se encuentra en la leche. Compuesta por una molécula de galactosa ligada mediante un enlace glucosídico $\beta(1,4)$ a una molécula de glucosa.
Lamelas del estroma. Membrana tilacoide que interconecta dos granas.
Lanzadera del glicerol fosfato. Proceso metabólico que utiliza glicerol-3-fosfato para transferir electrones desde el NADH del citosol al FAD mitocondrial.
Lanzadera del malato. Proceso metabólico en el que el oxalacetato se transfiere mediante la conversión reversible en malato desde una mitocondria al citoplasma.
Lanzadera malato-aspartato. Proceso metabólico en el que los electrones del NADH del citosol se transfieren al NAD^+ mitocondrial.
Lectina. Proteína que une hidratos de carbono.
Lectura de pruebas cinética. Mecanismo sugerido para explicar la precisión del apareamiento codón-anticodón durante la traducción. El apareamiento de bases correcto permite el tiempo suficiente para la hidrólisis del GTP unido a un factor de elongación.
Leucotrieno. Derivado lineal del ácido araquidónico cuya síntesis se inicia por una reacción de peroxidación.
Liasa. Enzima que cataliza la ruptura de los enlaces C—O, C—C, o C—N, dando lugar de esta manera a un producto que contiene un doble enlace.
Ligando. Molécula que se une a un lugar específico en una molécula grande.
Ligasa. Enzima que cataliza la unión de dos moléculas.
Límite de resolución. Distancia mínima entre dos puntos separados que permite su discriminación.
Lípido. Perteneciente a un grupo de biomoléculas que son solubles en disolventes apolares e insolubles en agua.
Lipogénesis. Biosíntesis de la grasa corporal (triacilgliceroles).
Lipólisis. Hidrólisis de las moléculas de grasa.
Lipoproteína. Proteína conjugada en la que las moléculas lipídicas son los grupos prostéticos. Complejo lípido-proteína que transporta en la sangre los lípidos insolubles en agua.
Lipoproteína de densidad baja. Tipo de lipoproteína que transporta colesterol a los tejidos.
Lipoproteína de densidad elevada. Tipo de lipoproteína con un contenido proteico elevado que se piensa elimina el exceso de colesterol de las membranas celulares y lo transporta al hígado.
Lipoproteína de densidad muy baja. Tipo de lipoproteína con una concentración relativa de lípidos muy elevada. Transporta lípidos a los tejidos.
Lisogenia. Integración de un genoma de un virus en un genoma hospedador.
Lisosoma. Orgánulo con forma de saco capaz de degradar la mayoría de las biomoléculas.
Litótrofo. Organismo que utiliza reacciones inorgánicas específicas para generar energía. También conocido como quimiolitótrofo.
Localización del transcrito. Unión de los mRNA a determinadas estructuras celulares dentro del citoplasma de forma que pueden crearse gradientes proteicos dentro de la célula.
Lugar activo. Hendidura en la superficie de una enzima donde se une un sustrato.

Macromolécula. Biopolímero formado por la unión de determinadas biomoléculas a través de enlaces covalentes. Entre los ejemplos se encuentran los ácidos nucleicos, las proteínas y los polisacáridos.
Maltosa. Producto de degradación de la hidrólisis del almidón. Disacárido formado por dos moléculas de glucosa unidas por un enlace glucosídico $\alpha(1,4)$.
Marco de lectura. Conjunto de codones tripletes contiguos en una molécula de mRNA.
Marco de lectura abierto. Serie de tripletes de una secuencia de mRNA que no contienen un codón de parada.
Matriz extracelular. Material gelatinoso que contiene proteínas e hidratos de carbono y que une a las células y los tejidos.
Membrana externa. Membrana porosa externa de las mitocondrias.
Membrana interna. Membrana más interna de las mitocondrias.
Membrana plasmática. Membrana que rodea una célula, separándola de su ambiente externo.
Membrana tilacoide. Membrana interna plegada de forma intrincada dentro del cloroplasto.
Metabolismo. Conjunto de todas las reacciones químicas de un organismo.
Metabolismo C4. Ruta fotosintetizadora que produce una molécula de 4 carbonos e impide la fotorrespiración en los organismos eucariotas fotosintetizadores.
Metabolismo del ácido crasuláceo. Ruta fotosintetizadora que produce una molécula de cuatro carbonos (malato) y evita la fotorrespiración.

Metabolito secundario. Molécula derivada de un metabolito primario. Muchos desempeñan funciones protectoras.
Metaboloma. Conjunto completo de metabolitos orgánicos que se producen dentro de una célula bajo la dirección del genoma.
Metaloproteína. Proteína conjugada que contiene uno o varios iones metálicos.
Metotrexato. Análogo estructural del folato que se utiliza en el tratamiento de varios tipos de cáncer; también se denomina ametopterina.
Micela. Agregación de moléculas que tienen un componente apolar y otro polar, quedando los dominios polares frente al agua que las rodea.
Microfilamento. Componente del citoesqueleto formado por la proteína actina.
Micromatriz de DNA. Un «chip» de DNA que se utiliza para analizar simultáneamente la expresión de miles de genes.
Microsatélite. Secuencias de 2 a 4 pb que están repetidas en forma de tándem de 10 a 20 veces.
Microsoma. Vesícula membranosa derivada de fragmentos de retículo endoplásmico obtenida mediante centrifugación diferencial.
Microtúbulo. Componente del citoesqueleto formado por la proteína tubulina.
Mineralcorticoide. Hormona esteroidea que regula el metabolismo del Na^+ y del K^+.
Minisatélite. Secuencias repetidas en tándem de alrededor de 25 pb con longitudes totales entre 10^2 y 10^5 pb.
Mitocondria. Orgánulo que posee dos membranas en el que tiene lugar la respiración aerobia.
Mitógeno. Sustancia que estimula la división celular.
Modelo del mosaico fluido. Modelo de las membranas celulares que se acepta en la actualidad en el que la membrana es una bicapa lipídica con proteínas integrales enterradas en el lípido y proteínas periféricas unidas más ligeramente a la superficie de la membrana.
Modificación posterior a la traducción. Conjunto de reacciones que alteran la estructura de los polipéptidos recién sintetizados.
Modulador. Molécula cuya unión a un lugar alostérico de una enzima altera la actividad enzimática.
Molécula anfipática. Molécula que contiene dominios polares y apolares.
Molécula anfotérica. Molécula que puede reaccionar como ácido y como base.
Molécula apolar. Molécula que no contiene un dipolo.
Molécula insaturada. Molécula que contiene uno o varios dobles o triples enlaces carbono-carbono.
Molécula oxidada. Molécula de la que se han eliminado uno o varios electrones.
Molécula polar. Molécula que tiene un dipolo permanente que resulta de una distribución asimétrica de los electrones.
Molécula quiral. Molécula que tiene formas especulares.
Molécula reducida. Molécula que ha ganado uno o varios electrones.
Molécula saturada. Molécula que no contiene dobles o triples enlaces carbono-carbono.
Monoinsaturado. Ácido graso con un solo doble enlace.
Monosacárido. Polihidroxialdehído o cetona con la fórmula $(CH_2O)_n$ donde n es al menos 3.
Mureína. Polímero complejo que contiene dos derivados de azúcares: N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico, y varios aminoácidos; también se denomina peptidoglucano.
Mutación. Cualquier cambio de la secuencia de nucleótidos de un gen.
Mutación de desplazamiento de marco. Pérdida de uno o más pares de bases (pero no múltiplos de tres) de una secuencia de DNA.
Mutación puntual. Cambio de un solo nucleótido en el DNA.
Mutación de transición. Mutación que implica la sustitución de una base de purina diferente de la purina presente en el lugar de la mutación o la sustitución de una pirimidina diferente de la pirimidina normal.
Mutación de transversión. Tipo de mutación puntual en la que se sustituye una pirimidina por una purina, o viceversa.
Mutagénesis de lugar dirigida. Técnica que introduce cambios de secuencia específicos en genes clonados.
Mutágeno. Cualquier agente químico o físico que altera la secuencia de nucleótidos de un gen.
Mutarrotación. Proceso espontáneo en el que se interconvierten fácilmente las formas α y β de los monosacáridos.

Naciente. Sintetizado de nuevo.
Neurotransmisor. Molécula liberada en una terminal nerviosa que se une y afecta a la función de otras células nerviosas o musculares.
Nucleasa. Enzima que hidroliza a las moléculas de ácidos nucleicos para formar oligonucleótidos.
Núcleo. Orgánulo que contiene los cromosomas.
Nucleófilo. Átomo o molécula con abundantes electrones.
Nucleohistona. DNA formando complejos con proteínas histonas.
Nucleoide. En los procariotas, una región de forma irregular que contiene una molécula grande de DNA circular.
Nucléolo. Estructura que se encuentra en el núcleo cuando se tiñe con determinados colorantes. Desempeña una función principal en la síntesis del RNA ribosómico.
Nucleoplasma. Material dentro del núcleo formado por proteínas denominadas láminas que forman una red de fibras de cromatina.
Nucleósido. Biomolécula formada por un azúcar pentosa (ribosa o desoxirribosa) y una base nitrogenada.
Nucleosoma. Elemento estructural que se repite en los cromosomas eucariotas, formado por un núcleo de ocho moléculas de histona con alrededor de 140 pares de bases de DNA enrollados por el exterior. Sesenta pares de bases adicionales conectan los nucleosomas adyacentes.
Nucleótido. Biomolécula formada por un azúcar pentosa (ribosa o desoxirribosa), al menos un grupo fosfato y una base nitrogenada.
Número de recambio. Número de moléculas de sustrato convertidas en producto cada segundo por mol de enzima.

Oligómero. Proteína con varias subunidades en la que alguna o todas las unidades son idénticas.
Oligonucleótido. Segmento corto de ácido nucleico que contiene menos de 50 nucleótidos.
Oligosacárido. Hidrato de carbono de tamaño intermedio formado por dos a diez monosacáridos.
Oncogén. Versión mutada de un protooncogén que promueve la proliferación anormal de la célula.
Operón. Conjunto de genes ligados que se regulan como una unidad.
Orgánulo. Estructura encerrada en una membrana dentro de una célula eucariota.
Osmolito. Sustancia osmóticamente activa que sintetizan las células para restaurar el equilibrio osmótico.
Ósmosis. Difusión de un disolvente a través de una membrana semipermeable.
Oxianión. Átomo de oxígeno cargado negativamente.
β-Oxidación. Ruta catabólica en la que se degradan la mayoría de los ácidos grasos. Se forma acetil-CoA al romperse el enlace entre los carbonos α y β.
Oxidación. Aumento del número de oxidación producido por la pérdida de uno o varios electrones.
Oxidante. Sustancia que oxida (elimina electrones de) otra sustancia. En el proceso el oxidante se reduce a sí mismo.
Oxidar. Eliminar electrones.
Oxidorreductasa. Enzima que cataliza una reacción de oxidación-reducción.

Palíndromo. Secuencia que proporciona la misma información se lea hacia delante o hacia atrás. Los palíndromos de DNA contienen secuencias repetidas invertidas.

Par redox conjugado. Donador electrónico y su forma aceptora del electrón. Por ejemplo, NADH y NAD^+.
Partícula de reconocimiento de la señal. Complejo grande que consta de proteínas sobre una molécula pequeña de RNA que participa en la unión del ribosoma al RER durante la síntesis de proteínas.
Partícula ribonuclear pequeña. Complejo de proteínas y moléculas pequeñas de RNA nuclear que promueve el procesamiento del RNA.
Péptido. Polímero de aminoácidos formado por menos de 50 residuos.
Péptido opiáceo. Molécula que alivia el dolor y produce sensaciones placenteras. Se produce en las células del tejido nervioso.
Péptido señal. Secuencia corta, habitualmente cerca del amino terminal de un polipéptido, que determina su destino.
Perfil de DNA. Consta del patrón y del número de repeticiones de las secuencias STR. Se emplea para identificar a las personas.
Peroxisoma. Orgánulo que contiene enzimas oxidativas.
pH óptimo. pH al que una enzima cataliza una reacción con una eficacia máxima.
Pigmento antena. Molécula que absorbe la energía luminosa y la transfiere a un centro de reacción durante la fotosíntesis.
Pirimidina. Base nitrogenada con una única estructura de anillo. Componente de los nucleótidos.
Plantas C3. Plantas que producen glicerato-3-fosfato, una molécula de tres carbonos, como primer producto estable de la fotosíntesis.
Plantas C4. Plantas que poseen mecanismos que suprimen la fotorrespiración al producir oxalacetato, una molécula de cuatro carbonos.
Plásmido. Molécula de DNA circular de doble cadena que puede existir y se replica de manera independiente del cromosoma bacteriano. Los plásmidos se heredan de forma estable, pero no se requieren para el crecimiento y la reproducción del hospedador de la célula.
Plástido. Un orgánulo que se encuentra en los vegetales, las algas y algunos protistas en los que se almacenan o sintetizan los hidratos de carbono.
Poliinsaturado. Se refiere a un ácido graso con dos o más dobles enlaces, normalmente separados por grupos metileno.
Polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción. Variaciones genéticas que pueden utilizarse para identificar a las personas.
Polipéptido. Polímero de aminoácidos con más de 50 residuos de aminoácidos.
Polipéptido homólogo. Molécula proteica cuyas secuencias de aminoácidos y funciones son semejantes a las de otra proteína.
Polisacárido. Polímero lineal o ramificado de monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos.
Polisoma. mRNA con varios ribosomas unidos a él.
Poliuria. Orinar excesivo. Un síntoma de diabetes insípida y de diabetes mellitus.
Poro nuclear. Canal a través de la cubierta nuclear que permite pasar a las moléculas entre el citoplasma y el núcleo.
Postabsortivo. Fase del ciclo alimentación-ayuno en la que la concentración de nutrientes en sangre es baja.
Posprandial. Fase del ciclo alimentación-ayuno inmediatamente posterior a una comida. La concentración de nutrientes en sangre es relativamente elevada.
Potencial de membrana. Diferencia de potencial a través de la membrana de las células vivas. Habitualmente se mide en milivoltios.
Potencial redox. Medida de la tendencia de un donador de electrones en un par redox para perder un electrón.
Potencial de reducción. Tendencia de una sustancia específica para perder o ganar electrones.
Potencial de transferencia de grupo fosfato. Tendencia de una molécula fosforilada a experimentar hidrólisis.
Prenilación. Unión covalente de grupos prenilo (p. ej., grupos farnesilo y geranilgeranilo) a moléculas de proteína.
Preproteína. Proteína precursora inactiva con un péptido señal removible.
Presión osmótica. Presión que fuerza al disolvente, el agua, a pasar a través de una membrana.
Presión de vapor. Presión ejercida por un vapor en equilibrio con un líquido.
Primasa. RNA polimerasa que sintetiza segmentos cortos de RNA, denominados cebadores, que se requieren en la síntesis de DNA.
Primosoma. Complejo multienzimático que participa en la síntesis de los cebadores de RNA en varios puntos a lo largo de la cadena molde de DNA durante la replicación en *E. coli*.
Principio de Le Chatelier. Ley que establece que cuando se perturba un sistema en equilibrio, éste se desplaza en la dirección contraria a la perturbación.
Prión. Partícula infecciosa proteinácea. Se piensa que es el agente causal de varias enfermedades neurodegenerativas adquiridas (p. ej., enfermedad de las vacas locas y enfermedad de Creutzfeldt-Jacob).
Procesividad. Impedimento de la disociación frecuente de una polimerasa del DNA molde.
Proceso exergónico. Reacción que se produce espontáneamente hasta completarse como está escrita. La variación de energía libre es negativa y la constante de equilibrio es mayor de 1.
Proenzima. Precursor inactivo de una enzima.
Promotor. Secuencia de nucleótidos inmediatamente anterior a un gen que reconoce la RNA polimerasa y señala el punto de comienzo y dirección de la transcripción.
Promotor tumoral. Molécula que proporciona a las células una ventaja de crecimiento sobre las células vecinas.
Propiedad coligativa. Propiedad de las disoluciones que sólo depende del número de partículas disueltas en la disolución.
Proproteína. Proteína precursora inactiva.
Prostaglandina. Derivado del ácido araquidónico que contiene un anillo de ciclopentano con grupos hidroxilo en C-11 y C-15.
Proteína. Macromolécula formada por uno o varios polipéptidos.
Proteína activadora GTPasa. Molécula proteica que hidroliza el GTP unido a una proteína de unión de GTP.
Proteína de atraque. Denominada también receptor de la partícula de reconocimiento de la señal. Una proteína heterodimérica transmembrana del RER que une un SRP unido a un ribosoma desencadenando así la reanudación de la síntesis proteica.
Proteína de choque térmico. Proteína sintetizada en respuesta a la agresión (p. ej., temperatura elevada).
Proteína conjugada. Proteína que actúa sólo cuando transporta otros grupos químicos unidos mediante enlaces covalentes o mediante interacciones débiles.
Proteína desacopladora. Molécula que disipa el gradiente protónico en las mitocondrias por la translocación de protones; también se denomina termogenina.
Proteína fibrosa. Proteína formada por polipéptidos dispuestos en láminas o fibras largas.
Proteína G. Proteína que une GTP el cual activa a la proteína para realizar una función. La hidrólisis del GTP para formar GDP inactiva a la proteína G.
Proteína globular. Proteína que adopta una forma redondeada o globular.
Proteína liberadora de nucleótido de guanina. Proteína que se une a un miembro de la familia de proteínas Ras, y las activa desencadenando la liberación de su GDP unido y la consiguiente unión de GTP.
Proteína motora. Componentes de las máquinas moleculares que unen nucleótidos. La hidrólisis del nucleótido impulsa los cambios precisos de la forma de la proteína.
Proteína quinasa dependiente de ciclina. Perteneciente a un grupo de enzimas activadas por las ciclinas.
Proteína transportadora de esterol. Proteína citoplásmica transportadora de determinados intermediarios durante la biosíntesis del colesterol.
Proteína de unión de ácidos grasos. Proteína hidrosoluble intracelular cuya única función es unir y transportar ácidos grasos hidrófobos.

Proteoglucano. Molécula grande que contiene un número grande de cadenas de glucosaminoglucanos ligados a una molécula proteica central.
Proteoma. Conjunto completo de proteínas producido dentro de una célula.
Proteómica. Análisis de los proteomas.
Proteosoma. Complejo multienzimático que degrada las proteínas ligado a la ubiquitina.
Protómero. Subunidad de las enzimas alostéricas.
Protooncogén. Gen normal que cuando está mutado promueve la carcinogenia.
Puente disulfuro. Enlace covalente formado entre los grupos sulfhidrilo de dos residuos de cisteína.
Puente salino. Interacción electrostática en las proteínas entre los grupos iónicos de carga opuesta.
Punto isoeléctrico. pH al cual una proteína no tiene carga neta.
Purina. Base nitrogenada con una estructura de dos anillos. Componente de los nucleótidos.

Quilomicrón. Lipoproteína grande de densidad muy baja. Transporta los triglicéridos y los ésteres de colesterol del alimento desde el intestino al músculo y al tejido adiposo.
Quimioheterótrofo. Organismo que utiliza moléculas de alimento preformadas como única fuente de energía.
Quimiolitótrofo. Organismo que utiliza reacciones inorgánicas específicas para generar energía.
Quitina. Polímero no ramificado en el que los residuos de N-acetil glucosamina están ligados por enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$. Principal componente estructural del exoesqueleto de los artrópodos.

Racemización. Interconversión de enantiómeros.
Radical. Átomo o molécula con un electrón desapareado.
RE rugoso. Tipo de retículo endoplásmico que participa en la síntesis de proteínas.
Reacción de adición. Reacción química en la que dos moléculas reaccionan para formar una tercera molécula.
Reacción anaplerótica. Reacción que repone un sustrato necesario para una ruta bioquímica.
Reacción en cadena de la polimerasa. Técnica de laboratorio que se utiliza para sintetizar cantidades grandes de secuencias específicas de nucleótidos a partir de cantidades pequeñas de DNA utilizando una DNA polimerasa termoestable.
Reacción de conjugación. Reacción que puede mejorar la hidrosolubilidad de una molécula al convertirla en un derivado que contiene un grupo hidrosoluble.
Reacción de eliminación. Reacción química en la que se forma un doble enlace cuando se eliminan átomos de una molécula.
Reacción endergónica. Reacción que no se produce de forma espontánea hasta completarse. La variación de energía libre es positiva y la constante de equilibrio menor de 1.
Reacción endotérmica. Reacción que requiere energía (como calor).
Reacción exotérmica. Reacción que libera calor.
Reacción independiente de la luz. Reacción fotosintetizadora que se puede producir en ausencia de luz; también se denomina ciclo de Kalvin.
Reacción luminosa. Mecanismo por el cual los electrones se energetizan y a continuación se utilizan en la síntesis de ATP y NADH.
Reacción de Maillard. Glucosilación no enzimática de moléculas que poseen grupos amino libres (p. ej., las proteínas).
Reacción de oxidación-reducción (redox). Reacción en la que se produce la transferencia de uno o varios electrones desde un reactante a otro.
Recambio. Velocidad a la que todas las moléculas de una estructura se degradan y sustituyen por moléculas sintetizadas de nuevo.
Recambio proteico. Degradación y nueva síntesis continua de las proteínas en un organismo.
Receptor. Proteína de la superficie celular que se une a una molécula nutriente extracelular específica y facilita su entrada a la célula. Otros receptores unen señales químicas y dirigen la respuesta adecuada de la célula.
Recombinación. Proceso en el cual se fraccionan las moléculas de DNA y vuelven a unirse en combinaciones nuevas.
Recombinación específica de lugar. Recombinación de material genético no homólogo con un cromosoma en un lugar específico.
Recombinación general. Recombinación que implica el intercambio de un par de secuencias de DNA homólogas. Puede tener lugar en cualquier lugar de un cromosoma.
Recuperación de la fluorescencia tras la fotodisipación. Técnica que se utiliza para observar el movimiento lateral de las moléculas en las membranas celulares. Tras la disipación de las moléculas marcadas fluorescentemente, el movimiento de las moléculas cercanas sin disipar al área disipada se sigue en función del tiempo.
Reducción. Disminución del número de oxidación por la ganancia de electrones.
Reducir. Transferencia de electrones.
Reductor. Sustancia que reduce el número de oxidación de otro reactante. El reductor se oxida a sí mismo en el proceso.
Reglas de Chargaff. En el DNA, la igualdad de las concentraciones de adenina y timina, y de citosina y guanina.
Regulación por disminución. Reducción de los receptores celulares de superficie como respuesta a la estimulación por moléculas hormonales específicas.
Regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística. Glucoproteína de la membrana plasmática que actúa como un canal para el cloro en las células epiteliales.
Reparación por escisión. Mecanismo de reparación del DNA que elimina los nucleótidos dañados y luego los sustituye con normales.
Reparación por fotorreactivación. Mecanismo para reparar los dímeros de timina utilizando la energía de la luz visible.
Reparación inducida por la luz. Reparación del DNA en la que las secuencias dañadas se reparan utilizando la energía luminosa; también se denomina reparación por fotorreactivación.
Reparación por recombinación. Mecanismo de reparación que puede eliminar determinados tipos de secuencias de DNA dañadas que no son eliminadas antes de la replicación. Las cadenas parentales no dañadas se recombinan en el hueco que queda tras la eliminación de la secuencia dañada.
Repeticiones cortas en tándem. Secuencias de DNA con repeticiones de entre 2 y 4 pb. Pueden utilizarse para generar perfiles de DNA diferentes entre las personas.
Repeticiones dispersas por el genoma. Secuencias repetitivas de DNA que están dispersas por todo el genoma.
Repeticiones en tándem. Secuencias de DNA en las que se encuentran dispuestas muchas copias una cerca de otra. Las longitudes de las secuencias repetidas varían desde 10 pb hasta más de 2000 pb.
Replicación. Proceso en el que se sintetiza una copia exacta del DNA progenitor utilizando como sustratos las cadenas de polinucleótidos de los DNA progenitores.
Replicación semiconservativa. Síntesis de DNA en la que cada cadena de polinucleótidos se utiliza como molde para la síntesis de una nueva cadena.
Replicón. Unidad del genoma que contiene un origen para iniciar la replicación.
Replisoma. Complejo grande de polipéptidos, que incluye el primosoma, que replica el DNA en *E. coli*.
Residuo de aminoácido. Aminoácido que se ha incorporado a una molécula polipeptídica.
Respiración. Proceso bioquímico en el que se oxidan las moléculas de combustible y se utilizan sus electrones para generar ATP.
Respiración aerobia. Proceso metabólico en el que se utiliza el oxígeno para generar energía a partir de las moléculas del alimento.
Respuesta inmunitaria humoral. Inmunidad que resulta de la presencia de anticuerpos en sangre y líquido tisular; también se denomina inmunidad con intervención de anticuerpos.
Retículo endoplásmico. Conjunto de canales y sacos membranosos que proporcionan

un compartimiento separado del citoplasma para numerosas reacciones químicas.
Retroalimentación negativa. Mecanismo en el que se regula una ruta bioquímica por la unión de una molécula producto a una enzima clave en la ruta.
Retrotransposón. Mecanismo de transposición que utiliza un transcrito de RNA. Un transposón de RNA.
Retrovirus. Perteneciente a un grupo de virus con genomas de RNA que transporta la enzima transcriptasa inversa y forma una copia de DNA de su genoma durante su ciclo reproductor.
Ribosoma. Complejo de proteína-RNA donde se sintetizan las proteínas.
Ribozima. RNA que se corta y empalma a sí mismo, que se encuentra en varios organismos.
RNA antisentido. Molécula de RNA con una secuencia complementaria a la de una molécula de mRNA.
RNA mensajero. Especie de RNA que se produce por transcripción y que especifica la secuencia de aminoácidos de un polipéptido.
RNA nuclear heterogéneo. Tránscrito primario de DNA. Precursor de un mRNA.
RNA nuclear pequeño. Molécula pequeña de RNA que participa en la eliminación de los intrones de los mRNA, rRNA y tRNA.
RNA ribosómico. RNA presente en los ribosomas. Los ribosomas contienen varios tipos de RNA ribosómico de cadena sencilla que contribuyen a la estructura de los ribosomas y también participan directamente en la síntesis de proteínas.
RNA de transferencia. RNA pequeño que se une a un aminoácido y lo entrega al ribosoma para la incorporación a una cadena polipeptídica durante la traducción.
Rotura aldólica. Inversa de la condensación aldólica.
Ruta anabólica. Conjunto de reacciones bioquímicas en las que se sintetizan moléculas complejas grandes a partir de precursores más pequeños.
Ruta anfibólica. Ruta metabólica que opera tanto en el anabolismo como en el catabolismo.
Ruta catabólica. Conjunto de reacciones bioquímicas en las que se degradan moléculas complejas grandes para dar productos más pequeños y más simples.
Ruta de las pentosas fosfato. Ruta bioquímica que produce NADPH, ribosa y otros azúcares.
Ruta de transulfuración. Ruta bioquímica que convierte la metionina en cisteína.

Sacarosa. Disacárido formado por residuos de α-glucosa y β-fructosa unidos mediante un enlace glucosídico entre ambos carbonos anoméricos.
Sales biliares. Moléculas anfipáticas con propiedades detergentes que son componentes importantes de la bilis, un líquido amarillo verdoso que favorece la digestión de las grasas. Derivados conjugados de los ácidos biliares ácido cólico y ácido desoxicólico.
Salto cromosómico. Técnica utilizada para aislar clones que contienen secuencias discontinuas del mismo cromosoma.
Secuencia de consenso. Promedio de varias secuencias semejantes. Por ejemplo, la secuencia de consenso de la caja −10 promotora de *E. coli* es TATAAT.
Secuencia Shine-Dalgarno. Secuencia con abundantes purinas que se encuentra en un mRNA cerca del AUG (codón de iniciación) que se une a una secuencia complementaria sobre la unidad ribosómica 30S, promoviendo de esta forma la formación del complejo de preiniciación correcto.
Segundo código genético. Precisión con la que los aminoácidos están unidos a sus tRNA correspondientes. Catalizado por aminoacil-tRNA sintetasas. Razón principal de la exactitud de la síntesis polipeptídica.
Segundo mensajero. Molécula que interviene en la acción de algunas hormonas.
Serina proteasa. Perteneciente a una clase de enzimas proteolíticas que utilizan el $-CH_2OH$ de un residuo de serina como un nucleófilo para hidrolizar los enlaces peptídicos.
Simbiosis. La vida conjunta o la asociación cercana de dos organismos distintos.
Sistema de transporte de electrones. Serie de moléculas de transporte de electrones que se unen reversiblemente a electrones a diferentes niveles energéticos.
Solución hipertónica. Solución concentrada con una presión osmótica elevada.
Solución hipotónica. Solución diluida con una presión osmótica baja.
Solución isotónica. Soluciones que tienen exactamente la misma concentración de partículas. Tienen una presión osmótica idéntica.
Somatomedina. Polipéptido que interviene en la acción promotora de crecimiento de la hormona de crecimiento.
Subunidad. Componente polipeptídico de una proteína oligomérica.
Sustitución nucleófila. Reacción en la que un nucleófilo sustituye a un átomo o grupo molecular.
Sustrato. Reactante en una reacción química que se une al lugar activo de una enzima y se convierte en producto.

Tasa metabólica basal. Medida de la energía que se requiere para mantener las actividades metabólicas esenciales para la vida.
Tautomerización. Reacción química por la cual se interconvierten dos isómeros por el movimiento de un átomo o grupo molecular.
Tautómero. Isómero que se diferencia de otro en la localización de un átomo de hidrógeno y un doble enlace (p. ej., tautómeros ceto-enólicos).
Técnica de hibridación de colonias. Método que se utiliza para identificar las colonias bacterianas que poseen una secuencia específica de DNA recombinante.
Telómero. Estructuras en los extremos de los cromosomas que amortiguan la pérdida de secuencias codificadoras críticas tras una ronda de replicación del DNA.
Teoría del acoplamiento quimiosmótico. La síntesis de ATP está acoplada al transporte electrónico por un gradiente protónico electroquímico a través de una membrana.
Teoría cuántica. Teoría de la física que describe el comportamiento de las partículas (p. ej., electrones) y sus ondas asociadas.
Terminación. Fase de la traducción en la que se liberan del ribosoma los polipéptidos recién sintetizados.
Termodinámica. Estudio de la energía y su interconversión.
Terpeno. Perteneciente a una clase de isoprenoides que se clasifican de acuerdo con el número de residuos de isopreno que contienen.
Terpenoide mixto. Biomolécula que está formada por componentes aterpénicos unidos a grupos isoprenoides.
Tipado de DNA. Técnica de análisis de DNA que se emplea para identificar a las personas. Emplea el análisis de varias secuencias muy variables denominadas marcadoras.
α-Tocoferol. Molécula liposoluble que actúa como recolector de radicales. Vitamina E.
Trabajo. Variación de energía que produce un cambio físico.
Traducción. Síntesis de proteínas. Proceso por el que el mensaje genético que lleva el mRNA dirige la síntesis de polipéptidos con la ayuda de los ribosomas y otros constituyentes celulares.
Transaminación. Reacción en la que se transfiere un grupo amino desde una molécula a otra.
Transcripción. Proceso en el que se sintetiza un RNA de cadena sencilla con una secuencia de bases complementaria a la de la cadena molde de DNA.
Transcriptoma. Conjunto completo de moléculas de RNA que se producen dentro de una célula.
Transducción. Transferencia de genes entre bacterias y bacteriófagos.
Transducción de señal. Mecanismos mediante los cuales se reciben, amplifican y convierten en una respuesta celular las señales extracelulares.
Transfección. Mecanismo por el cual los bacteriófagos inadvertidamente transfieren el cromosoma bacteriano o secuencias de plásmidos a una nueva célula hospedadora.
Transferasa. Enzima que cataliza la transferencia de un grupo funcional desde una molécula a otra.

Transferencia cotraduccional. Inserción de un polipéptido a través de una membrana durante la síntesis proteica.
Transferencia de energía de resonancia. Transferencia de energía desde una molécula excitada a otra molécula cercana, excitando de esta manera a la segunda molécula.
Transferencia lateral de genes. Transferencia de genes o fragmentos génicos entre organismos no relacionados.
Transferencia Southern. Técnica en la que se utilizan los perfiles de DNA o RNA marcados radiactivamente para localizar una secuencia complementaria en un digerido de DNA.
Transformación. Fragmentos de DNA desnudos entran en una célula bacteriana y se introducen en el genoma bacteriano.
Transición alostérica. Cambio conformacional en una proteína inducido por el ligando.
Translocación. Movimiento del ribosoma a lo largo del mRNA durante la traducción.
Translocación posterior a la traducción. Transferencia a los polipéptidos sintetizados previamente a través de la membrana del RER
Translocón. Proteína integral de membrana que interviene en la translocación de los polipéptidos.
Transporte activo. Movimiento de moléculas a través de una membrana en contra de un gradiente de concentración que requiere energía.
Transporte pasivo. Transporte a través de una membrana que no requiere energía.
Transposición. Movimiento de un trozo de DNA de un lugar del genoma a otro.
Transposón de RNA. Mecanismo de transposición que implica un transcrito de RNA; también se denomina retrotransposón.
Transposones (elementos transponibles). Segmento de DNA que lleva los genes que se requieren para la transposición que se mueve por el cromosoma. Algunas veces se reserva el nombre para los elementos transponibles que también contienen genes no relacionados con la transposición.
Triacilglicerol. Éster formado entre el glicerol y tres ácidos grasos.
Triosa fosfato. Moléculas de gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato que se forman durante la glucólisis.
Tromboxano. Derivado del ácido araquidónico que contiene un éster cíclico.

Ubiquitina. Proteína que está unida covalentemente mediante enzimas a las proteínas destinadas a la degradación.
Ubiquitinación. Unión covalente de ubiquitina a las proteínas. Prepara a las proteínas para la degradación.
Unión cooperativa. Mecanismo en el que la unión de un ligando a una molécula facilita la unión de otros ligandos.

Vector. Vehículo de clonación en el que puede cortarse y empalmarse un segmento de DNA ajeno de forma que pueda introducirse y expresarse en las células hospedadoras.
Velocidad. En una reacción bioquímica, el cambio de concentración de un reactante o producto por unidad de tiempo.
Vitamina. Molécula orgánica que requieren los organismos en cantidades mínimas. Algunas vitaminas son coenzimas requeridas para la función de las enzimas celulares.
Vitamina B_{12}. Molécula compleja que contiene cobalto que se requiere para la conversión dependiente de N^5-metil THF de la homocisteína en metionina.

Xenobiótico. Moléculas ajenas y potencialmente tóxicas.

Zimógeno. Forma inactiva de una enzima proteolítica.

Créditos

Fotografías

CAPÍTULO 1

1.3: © Susan Detwiler; **1.21a-c:** © y cortesía de David S. Goodsell, the Scripps Research Institute.

CAPÍTULO 2

2.10: © Charles C. Brinton, Jr. y Judith Carnahan; **2.14:** © Audrey M. Glauert y G. M. W. Cook; **2.15:** © P. Schulz/Biology Media/Photo Researchers, Inc.; **2.16:** © Don Fawcett/Photo Researchers, Inc.; **2.21:** © Gopal Murti/Phototake; **2.22b:** © M. M. Perry y A. B. Gilbert. *J. of Cell Science* 39:257-272, 1979. Company of Biologists Ltd.; **2.23:** © E. H. Newcombe y S. E. Frederick/Biological Photo Service; **2.24b:** © Don Fawcett/Photo Researchers, Inc.; **2.25a y b:** © C. R. Hackenbrook. Ultrastructural bases for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. *J. of Cell Biology* 37: no. 2, 364-365 (1968). Con autorización de la American Society for Microbiology; © Rockefeller University Press; **2.26:** © Hermann Eisenbeiss/Photo Researchers, Inc., **Figura 2A;** © Don Fawcett/Photo Researchers, Inc., **2.27a:** © J. W. Shuler/Photo Researchers, Inc.; **2.27b:** © J. L. Carson/Custom Medical Stock Photo; **2.27c:** © Dr. Peter Dawson/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.

CAPÍTULO 3

Apertura: NASA.

CAPÍTULO 4

Apertura: © Tom Brakefield/Corbis.

CAPÍTULO 5

Apertura: © y cortesía de David S. Goodsell, Scripps Research Institute; **5.16a:** De *Molecules of Life*, Purdue University; **5.26:** K. A. Piez en D. B. Wetlander, ed., *'The Protein Folding Problem*, AAAS Selected Symposium 89, American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C., 1984, pp. 47-61.' Cortesía de Collagen Corporation. Reproducida con autorización de American Association for the Advancement of Science; **Recuadro 5B(a):** Cortesía de Dudley Library Archives; **Recuadro 5B(b):** Cortesía de The Royal Society of Medicine.

CAPÍTULO 7

7.19a: © Leonard Lessin/Peter Arnold, Inc.; **7.20a, 7.21a:** © Leonard Lessin/FBPA; **Recuadro 7B:** © Bellerophon Books.

CAPÍTULO 8

CO 8: © Mathew Klein/Photo Researchers, Inc., **Recuadro 8A:** Expedición egipcia del Metropolitan Museum of Art, Rogers Fund, 1915. (15.5.19e) Fotografía © 1989 The Metropolitan Museum of Art; **Recuadro 8B(a y b):** © Phototake.

CAPÍTULO 10

10.14b: De D. F. Parsons, *Science* 1963. 140: página 985. © 2001 American Association for the Advancement of Science.

CAPÍTULO 11

11.2a: © Leonard Lessin/Peter Arnold, Inc.; **11.2b:** © Leonard Lessin/FBPA; **11.4:** © Leonard Lessin/Peter Arnold, Inc.; **11.8:** © Leonard Lessin/FBPA; **11.13a:** © Leonard Lessin/Peter Arnold, Inc.

CAPÍTULO 12

Apertura: © corbisimages.com.

CAPÍTULO 13

Apertura: © Govindjee.

CAPÍTULO 16

Apertura: © corbisimages.com

CAPÍTULO 17

Apertura: De Elizabeth Pennisi, *The Human Genome*, Science Feb. 16 2001. 291: página 1177. © 2001 American Association for the Advancement of Science. Ilustración de Cameron Slayden; **17.8:** De J. D. Watson, *The Double Helix*, p. 215, New York: Atheneum. © 1968 por J. D. Watson, fotógrafo A. C. Barrington. Cortesía de Cold Spring Harbor Laboratory Archives; **17.9:** R. E. Franklin y R. Gosling. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature* 171:740-741. © 1953 Macmillan Magazines Ltd. Reproducido con autorización de *Nature;* **17H:** © Jean Claude Revy/Phototake.

CAPÍTULO 18

18.4: Reproducido de CELL, Vol. 79, 1994, pp 1233-1243, Krishna *et al*, «Crystal structure of...» © 2002, con autorización de Elsevier Science; **18C:** © y cortesía de Dr. Keith V Wood; **18H:** Cortesía de AFFYMETRIX, Inc.

CAPÍTULO 19

Apertura: De Marat M. Yusupov, Gulnara Zh. Yusupova, Albion Baucom, Kate Lieberman, Thomas N. Earnest, J. H. D. Cate, and Harry F. Noller *Crystal Structure of the Ribosome at 5.5 AÅ Resolution*, Science Mayo 4 2001. 292: página 885. © 2001 American Association for the Advancement of Science; **19B:** Banks R.E., Dunn M.J., Hochstrasser D.F, Sanchez J.-Ch., Blackstock W, Pappin D.J., Selby P.J. «Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities.» *The Lancet*, Vol. 356, No 9243, p. 1749-1756, Noviembre 18, 2000. Reproducido con autorización de Elsevier Science.

Dibujos

CAPÍTULO 1

1.14: De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **1.22:** Adaptado de Genethics: Clash Between New Genetics and Human Values, de David Suzuki y Peter Knudt-son, 1990, Harvard University Press.

CAPÍTULO 2

2.4: Derechos de reproducción © 1998 De Essential Cell Biology de Bruce Alberts, *et al.* Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **2.5:** De David S. Goodsell, The Machinery of Life, 1998. Derechos de reproducción © 1998 Springer-Verlag. Reproducido con autorización de Springer-Verlag/Germany. **2.6:** De M. Hoppert y F. Mayer, «Prokaryotes,» American Scientist, Vol. 87, Noviembre-Diciembre 1999. Derechos de reproducción © David Goodsell. Reproducido con autorización. **2.7:** De David S. Goodsell, The Machinery of Life, 1998. Derechos de reproducción © 1998 Springer-Verlag. Reproducido con autorización de Springer-Verlag/Germany. **2.8:** De Prescott, *et al.*, Microbiology 4/e. Derechos de reproducción © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **2.9a y b:** De David S. Goodsell, The Machinery of Life, 1998. Derechos de reproducción © 1998 Springer-Verlag. Reproducido con autorización de Springer-Verlag/Germany. **2.11:** De Microbiology: An Introduction, de Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke y Christine L. Case. Derechos de reproducción © 1998 de The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Reproducido con autorización de Addison Wesley Longman Publishers, Inc. **2.16:** De The World of the Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 por Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **2.17:** De The World of the Cell, 4th ed. por Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **2.19:** De The World of the Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **2.20:** De The World of the

Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith, y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **2.22a:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **2.28a:** De R. Lewis, Life 3/e. Derechos de reproducción © 1998 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies **2C:** De R. Lewis, Life 3/e. Derechos de reproducción © 1998 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **2D:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **2E:** De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización.

CAPÍTULO 3

3.1: De Silverberg, Chemistry 2/e. Derechos de reproducción © The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **3.8:** De R. Chang, Chemistry 7/e. Derechos de reproducción © The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **3A:** Linda Huff, American Scientist, Septiembre-Octubre 1997, Volumen 85. Reproducido con autorizacion de American Scientist.

CAPÍTULO 5

TA5.4a-c: Derechos de reproducción © 1999 De Introduction to Protein Structure de Carl Branden y John Tooze. Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **5.16a & b:** Molecules of Life, Purdue University **5.19b:** Adaptado de Biochemistry, de Reginal H. Garrett y Charles M. Grisham, 1996. Brooks/Cole Publishing. **5.21a:** Con autorización de Annual Review of Biochemistry, Volumen 45 © 1976 de Annual Reviews *www.AnnualReviews.org.* 5.25: Adaptado de Biochemistry, de Reginal H. Garrett y Charles M. Grisham, 1996. Brooks/Cole Publishing. **5.26:** Cortesía de Karl A. Piez, Collagen Corporation. **5.32a & b:** Molecules of Life, Purdue University. **5.35:** Figura de Kilmartin y Rossi-Bernardi, Physiological Review, Vol. 53, p. 884, 1973. Reproducido con autorización de American Physiological Association. **5C:** De Biochemistry, 2nd ed. de Christopher K. Mathews y K.E. Van Holde. Derechos de reproducción © 1996 de The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **5E:** De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización.

CAPÍTULO 6

6.2 a y b: De Biochemistry, 2nd ed. De Christopher K. Mathews y K.E. Van Holde. Derechos de reproducción © 1996 de The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **TA6.21:** Figura de W.M. Keung, en Biochemical and Biophysical Research Communications, Volumen 156, 38-45. Derechos de reproducción © 1988, Elsevier Science (USA). Reproducido con autorización del editor.

CAPÍTULO 7

7.37: De Biochemistry, 2nd ed. de Christopher K. Mathews y K.E. Van Holde. Derechos de reproducción © 1996 de The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **7.38**: De Cell Ultrastructure, 1st ed. de S.L. Wolfe © 1985. Reproducido con autorización de Brooks/Cole, una impresión del Grupo Wadsworth, una división de Thomson Learning. Fax 800 730-2215. **7C**: De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización.

CAPÍTULO 8

8.6: Utilizado con autorización de Journal of Chemical Education, Vol. 52, No. 6, 1975, pp. 370-373; Derechos de reproducción © 1975, División de Chemical Education, Inc.

CAPÍTULO 10

Apertura: M.L. Hutcheon, T.M. Duncan, H. Ngai y R.L. Cross, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, Vol. 98, 2001. Reproducido con autorizacion de Richard L. Cross **10.4:** De Biochemistry, 2nd edición, de Garrett and Grisham © 1999. Reproducido con autorización de Brooks/Cole, una impresión del Grupo Wadsworth, una división de Thomson Learning Fax 800 730-2215. **10.6:** Derechos de reproducción © 1999 De Molecular Biology of the Cell de Bruce Alberts, *et al.* Reproducido con autorización de Rout-ledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **10.8:** Figura de D.G. Nicholls y S.J. Ferguson, Bioenergeties 2/e. Derechos de reproducción © Academic Press LTD, London. Reproducido con autorización del editor. **10.15:** Reproducido de Trends in Biochemical Sciences, Vol. 22, Jung, Hill, Engel-brecht, pp. 420-423. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **10.18:** De C.R. Scriver, *et al.*, The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases. Derechos de reproducción © 2001 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización deThe McGraw-Hill Companies. **10B:** De Groves, J.T and Wang, C. «Nitric Oxide Synthase,» Current Opinion in Chemical Biology, Vol. 4, p. 688. Derechos de reproducción © 2000 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science. 10C: Con autorización de Annual Review of Biochemistry, Volumen 56 © 1987 de Annual Reviews *www.AnnualReviews.org*

CAPÍTULO 11

Apertura: De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **11.17:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **11.22:** De ¡Cell Wounding & Healing,» American Scientist, Vol. 79. Reproducido con permiso del dibujante, Sally Black. **11.25:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc **11.29:** De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **11C(a):** Derechos de reproducción © 1999 De Introduction to Protein Structure de Carl Branden y John Tooze. Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **11C(b):** De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **11E:** De Thomas Zeuthen, Trends in Biochemical Sciences, Vol. 26, No. 2, pp. 77-79. Derechos de reproducción © 2001 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **11F:** De Thomas Zeuthen, Trends in Biochemical Sciences, Vol. 26, No. 2, pp. 77-79. Derechos de reproducción © 2001 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science.

CAPÍTULO 12

12.13: Con autorización de Annual Review of Biochemistry, Vol. 52 © 1983 de Annual Reviews *www.AnnualReviews.org.*

CAPÍTULO 13

13.2: De The World of the Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith, y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **13.3:** Reproducido de Trends in Biochemical Sciences, Vol. 7, Anderson & Anderson. Derechos de reproducción © 1982, con autorización de Elsevier Science. **13.4:** Reproducido de Trends in Biochemical Sciences, Vol. 22, Jung, Hill, Engelbrecht, pp. 420-423. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **13.13:** Adaptado de World of the Cell 4/e de Wayne M. Becker, *et al.*. 2000.**13.14:** Adaptado de World of the Cell 4/e de Wayne M. Becker, *et al.*. 2000.**13A:** De Lehninger Principles of Biochemistry de David Nelson y Michael Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **13B:** De The World of the Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **13D(b):** De Molecular Cell Biology de J. Darnell, H. Lodish y D. Baltimore. Derechos de reproducción © 2000, 1995, 1990, 1986 de Scientific American Books. Utilizado con autorización de W.H Freeman and Company.

CAPÍTULO 16

16.1: Figura de J. Koolman y K.H. Rahn, Color Atlas of Biochemistry, 1999. Reproducido con autorización de Thieme Medical Publishers. **16.11:** De The World of the Cell, 4th ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **16.14:** De Thomas M. Devlin, Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, 1999. Derechos de reproducción © 1999 John Wiley &Sons, Inc. Este material se utiliza con autorización de John Wiley & Sons, Inc.

16.15: De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **16B:** De Fundamentals of Biochemistry, de D. Voet, J. Voet y C. Pratt. Derechos de reproducción © 1999 John Wiley & Sons, Inc. Este material se utiliza con autorización de John Wiley & Sons, Inc.

CAPÍTULO 17

17.1: De A.H. Fairlamb, «Brand New World of Post Genomes,» Trends in Parasitology, Vol. 17, p. 255. Derechos de reproducción © 2000 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **17.2b:** De Feughelman, *et al.*, «Molecular Structure of DNA,» Nature, Vol. 175, Mayo 14, 1955. Reproducido con autorización de Nature. **17.4:** Derechos de reproducción © 1999 De Molecular Biology of the Cell de Bruce Alberts, *et al.* Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **17.10:** De Principles of Biochemistry de A. Lehninger, D. Nelson y M. Cox. Derechos de reproducción © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **17.12:** Datos de H. Htun y J.E. Dahlberg, Science 43:1571, 1989. **17.15:** De Terence A. Brown, Genomes, 1999. Reproducido con autorización de BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK. **17.18:** De Biochemistry, 2[nd] ed. De Christopher K. Mathews y K.E. Van Holde. Derechos de reproducción © 1996 by The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **17.20:** De Terence A. Brown, Genomes, 1999. Reproducido con autorización de BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK. **17A:** Derechos de reproducción © Oxford University Press and Cell Press, 2000. Reproducido de Genes VII de Benjamin Lewin (2000), con autorización de Oxford University Press. **17E:** De Prescott, *et al.*, Microbiology 4/e. Derechos de reproducción © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **17F:** De Recombinant DNA de J.D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski, M. Zoller © 1992, 1983 de J.D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski, M. Zoller. Utilizado con autorización de W.H. Freeman and Company. **17G:** De Prescott, *et al.*, Microbiology 4/e. Derechos de reproducción © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **17H:** De The World of the Cell, 4[th] ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **17I:** Reproducido con autorización de «Phylogenetic Classification and the Universal Tree,» de W. Ford Doolittle, Science 284, 2124, 1999. Derechos de reproducción © 1999 American Association for the Advancement of Science. **17J:** Reproducido con autorización de «Phylogenetic Classification and the Universal Tree,» de W Ford Doolittle, Science 284, 2124, 1999. Derechos de reproducción © 1999 American Association for the Advancement of Science. **17M:** De Scientific American, 279, Vol. 1, 1998. Reproducido con autorización de L.E. Henderson y L.O. Arthur. **17N:** De «Improving HIV Therapy,» Scientific American, Vol. 279. Reproducido con autorización de la dibujante, Patricia J. Wynne.

CAPÍTULO 18

18.3: De The World of the Cell, 4[th] ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **18.4:** Derechos de reproducción © Oxford University Press and Cell Press, 2000. Reproducido de Genes VII de Benjamin Lewin (2000), con autorización de Oxford University Press; reproducido con autorización de «Crystal Structure of DNA Recombination Protein RuvA and a Model for Its Binding to the Holliday Junction,» de J.B. Rafferty, *et al.*, Science 274, 415, 1996. Derechos de reproducción © 1996 American Association for the Advancement of Science. **18.7:** Adaptado de Biochemistry, de Reginal H. Garrett y Charles M. Grisham, 1996. Brooks/Cole Publishing. **18.8:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **18.15:** Adaptado de A. Landy y R.A. Weisberg, en R.W. Hendrix, *et al.*, Lambda II. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1983. **18.19:** De Principles of Biochemistry de Albert L. Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **18.21:** De Principles of Biochemistry de Albert L. Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox © 2000, 1993, 1982 de Worth Publishers. Utilizado con autorización. **18.23:** Derechos de reproducción © 1999 De Molecular Biology of the Cell de Bruce Alberts, *et al.* Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **18.26:** Con autorización de Annual Review of Biochemistry, Volumen 61 © 1992 de Annual Reviews www.AnnualReviews.org. **18.27:** De Geoffrey Cooper, The Cell: A Molecular Approach, 1997. Reproducido con autorización de Sinauer Associates, Inc. **18.30:** Derechos de reproducción © 1999 De Molecular Biology of the Cell de Bruce Alberts, *et al.* Reproducido con autorización de Routledge, Inc., parte del Grupo Taylor & Francis. **18.31:** De The World of the Cell, 4[th] ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **18.32:** De Terence A. Brown, Genomes, 1999. Reproducido con autorización de BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK. **18A:** De Prescott, *et al.*, Microbiology 4/e. Copyright © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **18B:** De E.W. Nester, Microbiology: A Human Perspective 3/e. Derechos de reproducción © 2001 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **18E:** De R.H. Tamarin, Principles of Genetics 6/e. Copyright © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **18F:** De E.W Nester, Microbiology: A Human Perspective 3/e. Derechos de reproducción © 2001 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies. **18G:** De Molecular Cell Biology de J. Darnell, H Lodish, D. Baltimore, P. Matsudaira, S. Zipursky, y A. Berk. Derechos de reproducción © 2000, 1995, 1990, 1986 de Scientific American Books. Utilizado con autorización de W.H. Freeman and Company. **18H:** De R.H. Tamarin, Principles of Genetics 6/e. Derechos de reproducción © 1999 de The McGraw-Hill Companies. Este material se reproduce con autorización de The McGraw-Hill Companies.

CAPÍTULO 19

19.1: Adaptado de Lodish, *et al.*, Molecular cell Biology, 4[th] edition, 2000. **19.5:** De Molecular Cell Biology de J. Darnell, H. Lodish, D. Baltimore, P. Matsudaira, S. Zipursky y A. Berk. Derechos de reproducción © 2000, 1995, 1990, 1986 de Scientific American Books. Utilizado con autorización de W.H. Freeman and Company. **19.11:** Reproducido con autorización de L.I. Slobin «Polypeptide Chain Elongation,» en Translation in Eukaryotes, dirigido por H. Trachsel, 1991. Derechos de reproducción CRC Press, Boca Raton, Florida. **19.15:** Con autorización de Annual Review of Biochemistry, Vol. 69 © 2000 de Annual Reviews www.AnnualReviews.org. **19.16:** De The World of the Cell, 4[th] ed. de Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. Derechos de reproducción © 2000 de Addison Wesley Longman, Inc. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc. **19.20a:** De S.T Ferreira y F.G. Felice, «Protein Dynamics, Folding and Misfolding,» FEBS Letters 498:129-134, 2001. Reproducido con autorización de Elsevier Science BV **19.20b:** De S.E. Ranford, «Protein Folding,» Trends in Biochemical Sciences, Vol. 25, pp. 611-618. Derechos de reproducción © 2000 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **19.21:** De S.E. Ranford, «Protein Folding,» Trends in Biochemical Sciences, Vol. 25, pp. 611-618. Derechos de reproducción © 2000 Elsevier Science. Reproducido con autorización de Elsevier Science. **19.22:** De Z. Xu, L. Horwich y P.B. Sigler, «The Crystal Structure of the Asymmetric GroEl-Gros-Es-(ADP)7 Chaperonen Complex,» Nature, Vol. 388, Agosto 21, 1997, pp. 741,750. Reproducido con autorización de Nature. **19A:** Adaptado de K. Abel and F. Jurnak, Structure 4:229-239, 1996. **19B:** De R.E. Banks, *et al.*, «Proteomics: New Perspectives and New Biomedical Opportunities,» Lancet, 2000, Vol. 356, No. 9243. Reproducido con autorización de Elsevier Science.

Índice

Los números de las páginas que van seguidos de una f o una c indican figuras y cuadros, respectivamente.

Nombres y abreviaturas estándar de los aminoácidos

Aminoácido	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutámico	Glu	E
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Cisteína	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Glutamina	Gln	Q
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Tirosina	Tyr	Y
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Valina	Val	V

La imagen de la cubierta es un modelo estructural de un canal de K^+, una clase de proteína transmembrana que forma un poro que permite el movimiento rápido de iones específicos a través de las membranas celulares. Esta imagen apareció por primera vez en la cubierta del número de agosto de 2000 de *Trends in Biochemical Sciences* (vol. 25, n.° 8) y la diseñó Geraldine Woods.



McGraw-Hill Interamericana de España, S. A. U.

A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies

ISBN: 84-486-0524-1